

Efeitos Agudos e Crônicos do Carvedilol Após Infarto do Miocárdio em Ratos

Marcelo Perim Baldo

Tese de Doutorado em Ciências Fisiológicas
(Fisiologia Cardiovascular)

Doutorado em Ciências Fisiológicas
Universidade Federal do Espírito Santo

Vitória, Junho de 2011

Efeitos Agudos e Crônicos do Carvedilol Após Infarto do Miocárdio em Ratos

Marcelo Perim Baldo

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Fisiológicas.

Aprovada em:

Prof. Dr. José Geraldo Mill - Orientador

Prof. Dr. Antônio Carlos Campos de Carvalho - UFRJ

Prof. Dr. Elisardo Corral Vasquez – UFES/EMESCAM

Profa. Dra. Ivanita Stefanon - UFES

Profa. Dra. Alessandra Simão Padilha - UFES

Universidade Federal do Espírito Santo

Vitória, Junho de 2011

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, que permitiram a realização desse trabalho. Eles que fazem a árdua tarefa de apoiar e incentivar todas as minhas atividades, na maioria das vezes sem poder entender a razão destas. Fato que evidencia o brilhantismo. À toda minha família, por todo o incentivo e apoio.

À minha querida Thaís, pelo companherismo, amizade, e o amor tão facilmente cedido. Agradeço a Deus por esse presente tão doce, e como disse uma vez o poeta, não agradeço por ter me dado essa mulher tão linda, mas por ter me dado a capacidade de perceber isso em seus gestos.

Os meus mais sinceros agradecimentos ao professor José Geraldo Mill, meu orientador durante todo o período de pós-graduação. Agradeço não só pelo enorme conhecimento fornecido ao longo desses anos, mas pelas oportunidades concedidas e pelas inúmeras portas que abriu.

Ao grande amigo Sérgio Lamêgo Rodrigues, grande parceiro em inúmeros trabalhos e um grande exemplo de família.

Aos Professores Ivanita Stefanon e Dalton Valentim Vassallo, e Professores Silvana dos Santos Meyrelles e Elisardo Corral Vasquez, que em todos os momentos se colocaram a disposição, e por abrirem as portas do seu Laboratório permitindo a colaboração na execução de novos trabalhos.

Um agradecimento especial aos professores Flávio Emery da Silva e Adriana Helena Moreira, esses que foram os grandes incentivadores da minha iniciação na vida acadêmica.

Aos companheiros do Laboratório, um agradecimento especial por todos os momentos e conhecimento compartilhados. Em especial, a Ludimila e ao Divanei por terem auxiliado na coleta de dados.

Aos professores do Programa de Pós-graduação por todo o conhecimento adquirido durante esses anos. Aos colegas de pós-graduação, que além de um convívio diário, alimentamos juntos o ócio criativo nas conversas na varanda e corredor. Aos

funcionários do Programa de Pós-Graduação pelo auxílio indispensável no desenvolvimento dos trabalhos.

Às agências de fomento à pesquisa, principalmente ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, por permitirem a realização de todos os trabalhos.

A todos os que participaram, não só desse trabalho, mas da minha trajetória.

*Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades;
lembrai-vos sempre que as grandes coisas do homem
foram conquistadas do que parecia ser impossível.*

Charles Chaplin

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos agudos e crônicos do carvedilol sobre o remodelamento do ventrículo esquerdo (VE) de ratos com infarto do miocárdio (IM). Ratos Wistar (8-9 semanas) foram infartados pela oclusão da artéria coronária esquerda. Após 24 h, os animais receberam carvedilol (IM-CARV; 20mg/kg/d, gavagem) ou veículo (IM-PLAC; metilcelulose 0,5%). Três e 28 dias depois, o VE foi cateterizado para avaliação da função cardíaca. Em seguida, registrou-se a curva pressão-volume. Uma amostra foi selecionada para realização do teste de tolerância ao exercício com intensidade progressiva em esteira. A atividade da ECA foi avaliada por fluorimetria e a expressão dos receptores da angiotensina II foi realizada por Western blot. O colágeno e a hipertrofia foram avaliados por histologia. Os resultados estão apresentados como média \pm erro padrão da média. A extensão do infarto não variou entre os grupos em nenhum dos momentos avaliados. Após 28 dias, os animais com IM apresentavam aumento significativo da pressão diastólica final do VE (SO= 7 ± 1 , IM-PLAC= 20 ± 2 , IM-CARV= 12 ± 3 mmHg, $P < 0,05$) e da dilatação (SO= $10,5 \pm 1,2$, IM-PLAC= $4,4 \pm 0,6$, IM-CARV= $6,3 \pm 1$ mmHg/ml.kg¹) comparado ao grupo SO, sendo que o carvedilol reverteu parcialmente esses aumentos. Os animais do grupo IM-CARV demonstraram maior resistência ao exercício comparados aos animais IM-CONT (IM-PLAC= $11,9 \pm 1$, IM-CARV= $17,3 \pm 1$ min). O colágeno aumentou no grupo IM-PLAC, e foi parcialmente reduzido pelo carvedilol (SO= $1,8 \pm 0,3$, IM-PLAC= $7,1 \pm 0,5$, IM-CARV= $5,4 \pm 0,5$ %). A área de secção transversa do miócito aumentou após o infarto, mas não foi influenciada pelo CARV. Houve aumento da atividade da ECA no VE do grupo IM-CONT, e revertido pelo carvedilol (SO= $43,5 \pm 2,6$, IM-CONT= $51,1 \pm 1,85$, IM-CARV= $37,1 \pm 2,5$ nmol/mg/min). Além disso, a expressão do receptor AT₁ no VE foi significativamente menor nos animais que receberam carvedilol (SO= $0,39 \pm 0,05$, IM-CONT= $0,65 \pm 0,05$, IM-CARV= $0,46 \pm 0,05$, $P < 0,05$). O carvedilol reduz a dilatação ventricular e melhora a função cardíaca e o desempenho aeróbico de ratos após o IM, com menor atividade da ECA e menor expressão dos receptores AT₁ no VE, impactando diretamente na redução da mortalidade após o infarto do miocárdio.

ABSTRACT

The present study sought to evaluate the acute and chronic effects of carvedilol in post-infarct left ventricular (LV) remodeling in rats. Male Wistar rats (8-9 weeks) were infarcted by left main coronary occlusion. Twenty-four hours later, animals were assigned to receive carvedilol (IM-CARV; 20 mg/kg/day, gavage) or vehicle (IM-PLAC; metilcelulose 0.5%). On the third and on the 28Th day, cardiac function was assessed by LV catheterism. In addition, in situ LV pressure-volume relationship was obtained using a double-lumen catheter. A sub-sample was selected and submitted to progressive maximal exercise tolerance test on a treadmill. Angiotensin converting enzyme (ACE) activity assay was done in plasma and LV fragments, and western blots were performed to detect AT₁ and AT₂ protein expressions. Collagen volume fraction and myocyte cross sectional area were evaluated in transversal slices of LV. Data are depicted as mean \pm standard error of mean. Infarct area (3 days) and extension (28 days) were similar between infarcted groups. Maximal exercise tolerance was reduced after infarction, and improved after carvedilol treatment (IM-PLAC= 11.9 \pm 1, IM-CARV= 17.3 \pm 1 min). Four weeks after coronary occlusion, LV end-diastolic pressure (SO= 7 \pm 1, IM-PLAC= 20 \pm 2, IM-CARV= 12 \pm 3 mmHg, P < 0,05) and LV dilation (SO= 10.5 \pm 1.2, IM-PLAC= 4.4 \pm 0.6, IM-CARV= 6.3 \pm 1 mmHg/ml.kg¹) were increased as compared to SHAM group, and carvedilol partially reverted these parameters. Interstitial collagen volume fraction and myocyte cross sectional area were increased after infarction. However, carvedilol reduced fibrosis proliferation (SO= 1.8 \pm 0.3, IM-PLAC= 7.1 \pm 0.5, IM-CARV= 5.4 \pm 0.5 %) in the viable tissue without alteration in the myocyte cross sectional area (SO= 393.1 \pm 16, IM-PLAC= 574.2 \pm 14.5, IM-CARV= 562.9 \pm 11.6 %). ACE activity was increased in the LV without alteration in its plasmatic activity after infarction, and it was blocked by carvedilol (SO= 43.5 \pm 2.6, IM-CONT= 51.1 \pm 1.85, IM-CARV= 37.1 \pm 2.5 nmol/mg/min). Moreover, AT₁ and AT₂ protein expressions were increased in the LV after infarction. Carvedilol blocked the increased AT₁ expression, but did not alter AT₂ expression. In conclusion, carvedilol was related to better cardiac function, reduced LV dilation and improved exercise tolerance in post-infarction heart failure rats, with decreased ACE activity and AT₁ expression in the LV. These changes were associated with higher post-infarction survival.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	Aspectos Epidemiológicos da Insuficiência Cardíaca após o Infarto	12
1.2	Remodelamento Ventricular após o Infarto do Miocárdio: Evidências Experimentais	14
1.2.1	Morte Celular	15
1.2.2	Inflamação e Remodelamento de Matriz Extracelular	16
1.2.2.1	Citocinas e Células Inflamatórias	17
1.2.2.2	Remodelamento de Matriz Extracelular	19
1.3	Ativação Neurohumoral no Curso do Remodelamento Ventricular	22
1.3.1	Ativação Adrenérgica	22
1.3.2	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona Cardíaco	25
1.4	Evolução do Tratamento da Insuficiência Cardíaca	29
1.5	Uso de β -bloqueadores no Tratamento do Infarto Agudo do Miocárdio e da Insuficiência Cardíaca Crônica	33
1.6	Tratamento do Infarto Agudo do Miocárdio e da Insuficiência Cardíaca Recém Diagnosticada: Questão em Debate	39
2	OBJETIVOS	42
2.1	Objetivo Geral	42
2.2	Objetivos Específicos	42
3	MATERIAIS E MÉTODOS	43
3.1	Animais de Experimentação	43
3.2	Indução do Infarto do Miocárdio	43
3.3	Grupos Experimentais e Esquemas Terapêuticos	44
3.4	Avaliações de Consumo Alimentar	46
3.5	Teste de Tolerância Máxima ao Exercício Aeróbico	46
3.6	Avaliações Hemodinâmicas	47
3.7	Análise in situ da Dilatação do Ventrículo Esquerdo: Relação Pressão-Volume	48
3.8	Análises Histológicas	51
3.8.1	Análise do Colágeno	51
3.8.2	Análise da Hipertrofia	52
3.9	Análise da Área e Extensão do Infarto	53

3.9.1	Técnica do Trifeniltetrazólio	53
3.9.2	Técnica Histológica	54
3.10	Coleta e Processamento de Tecidos para Biologia Molecular	54
3.11	Avaliação da Expressão Protéica (Western Blot)	55
3.12	Avaliação da Atividade Plasmática e Tecidual da Enzima Conversora de Angiotensina	57
3.13	Análise Estatística	58
4	RESULTADOS	59
4.1	Efeitos Agudos do Carvedilol	59
4.1.1	Características Ponderais	59
4.1.2	Avaliação da Área do Infarto	61
4.1.3	Avaliação da Mortalidade	62
4.2	Efeitos Sub-agudos e Crônicos do Carvedilol	63
4.2.1	Efeitos Sub-agudos do Carvedilol (3 dias)	63
4.2.1.1	Características Gerais e Parâmetros Ponderais	63
4.2.1.2	Parâmetros Hemodinâmicos	66
4.2.1.3	Atividade da ECA	67
4.2.1.4	Expressão Protéica dos Receptores AT ₁ e AT ₂	69
4.2.1.5	Avaliação da Área do Infarto	71
4.2.2	Efeitos Crônicos do Carvedilol	72
4.2.2.1	Parâmetros Alimentares e Ponderais	72
4.2.2.2	Teste de Resistência Aeróbica Máxima ao Esforço Físico	74
4.2.2.3	Medidas Hemodinâmicas	75
4.2.2.4	Atividade da ECA	76
4.2.2.5	Expressão Protéica dos Receptores AT ₁ e AT ₂	78
4.2.2.6	Curva Pressão-Volume	80
4.2.2.7	Avaliação da Extensão do Infarto	85
4.2.2.8	Avaliação do Colágeno Intersticial	87
4.2.2.9	Avaliação da Hipertrofia Cardíaca	88
4.2.2.10	Avaliação da Mortalidade	89
5	DISCUSSÃO	93
5.1	Principais Resultados do Presente Estudo	93
5.2	Aspectos Iniciais à Discussão	95

5.3	Avaliações Físicas e Extensão do Infarto	97
5.4	Parâmetros Funcionais	99
5.5	Avaliações Morfológicas	106
5.6	Mortalidade após o Infarto do Miocárdio	111
6	CONCLUSÃO	114
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115
	ANEXO I	157

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos Epidemiológicos da Insuficiência Cardíaca após o Infarto

Segundo dados da American Heart Association (Roger et al., 2011), a prevalência de infarto do miocárdio nos Estados Unidos situa-se em 3,1% na população com mais de 20 anos (Roger et al., 2011). Até 1990, observou-se aumento na incidência de hospitalização por infarto agudo do miocárdio. Porém, esse panorama tem-se modificado a partir de então, com tendência à diminuição da incidência de eventos coronarianos agudos (Movahed et al., 2009; Fang et al., 2010). A perda de miocárdio após um evento isquêmico agudo determina aparecimento de disfunção mecânica do coração. A evolução para insuficiência cardíaca depende da intensidade desta disfunção.

A insuficiência cardíaca é uma síndrome clínica resultante de desordens estruturais e funcionais do coração, comprometendo a habilidade do ventrículo em se encher (insuficiência diastólica) ou ejetar sangue (insuficiência sistólica) de acordo com as necessidades do organismo. Em muitas situações os dois tipos de insuficiência cursam em paralelo. Vários mecanismos compensatórios são ativados visando compensar a insuficiência cardíaca, cabendo destaque para a ativação neurohumoral. A insuficiência cardíaca pode evoluir sem manifestações clínicas por largos períodos de tempo. Após aparecimento de sintomas, entretanto, cerca de 50% dos pacientes vão a óbito em 5 anos (MacIntyre et al., 2000; Levy et al., 2002; Roger et al., 2004). A insuficiência cardíaca tem enormes repercussões sobre o sistema de saúde, sendo um dos itens de maior dispêndio, pois trata-se de um quadro evolutivo que, frequentemente, exige internação hospitalar.

O aumento da sobrevida nos eventos coronarianos agudos, em paralelo ao aumento da expectativa média de vida, tem determinado aumento progressivo na incidência de insuficiência cardíaca na população americana (Roger et al., 2004). De forma similar, Gomez-Soto et al. (2010) também observaram aumento da incidência de insuficiência cardíaca na população espanhola, apesar de redução da taxa de mortalidade, em vista de melhoras nos métodos de tratamento desta síndrome. Gauí

et al. (2010) reportaram recentemente redução na mortalidade por insuficiência cardíaca no Brasil, sugerindo ser este um panorama comum na epidemiologia desta condição.

A redução na taxa de hospitalização por infarto agudo do miocárdio e na mortalidade por insuficiência cardíaca estão em acordo com a constante melhora nas intervenções e esquemas terapêuticos disponíveis. Por outro lado, o aumento da expectativa de vida na população, associada à redução da mortalidade por insuficiência cardíaca, determina progressivo aumento da prevalência desta condição na população, fato que tem sido tratado como epidemia (McCullough et al., 2002; Roger, 2010). A Figura 1 ilustra os fatores que influenciam na dinâmica desta epidemia.

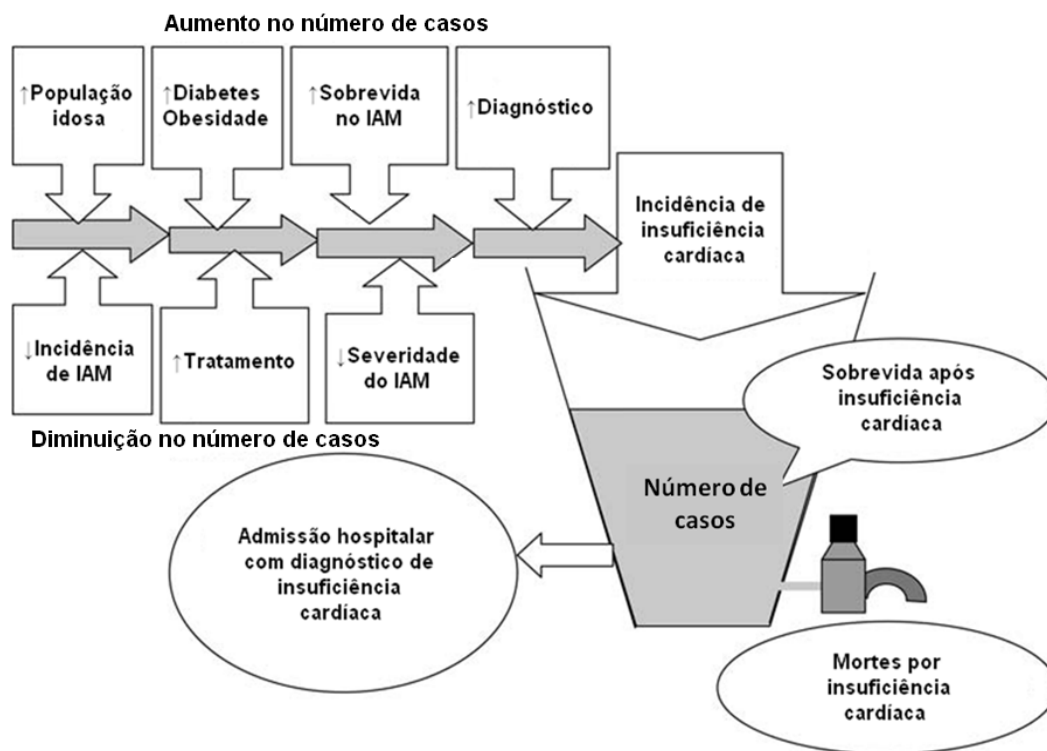


Figura 1. Fatores que interferem no aumento dos casos de insuficiência cardíaca (adaptado de Najafi et al., 2009).

1.2. Remodelamento Ventricular após o Infarto do Miocárdio: Evidências Experimentais

Atualmente, as bases farmacológicas para a prevenção e tratamento da insuficiência cardíaca após o infarto agudo do miocárdio estão relacionadas aos mecanismos de controle do assim chamado “remodelamento ventricular”. O remodelamento ou remodelação ventricular foi inicialmente definido como sendo decorrente da mudança da configuração geométrica do ventrículo esquerdo após infarto do miocárdio (Roberts et al., 1984). Estas alterações, caracterizadas principalmente pela dilatação da câmara infartada, reduzem a eficiência mecânica da bomba cardíaca, predispondo, portanto, ao quadro de insuficiência. Posteriormente o termo “remodelamento” passou a ser utilizado como sinônimo de alterações mais amplas do coração e que predisõem à insuficiência cardíaca. Dependendo do setor afetado, o termo remodelação passou a ser seguido por uma adjetivação própria que traduzisse melhor o foco da alteração. Nasceram então os termos “remodelamento geométrico” (que passou a ser utilizado para expressar a idéia original do remodelamento), “remodelamento bioquímico” (que traduz a re-expressão do padrão fetal de proteínas sarcoméricas) e, mais recentemente, “remodelamento eletrofisiológico”, traduzindo as alterações bioelétricas no miocárdio remodelado. Muito do que se conhece atualmente dos eventos do remodelamento após o infarto do miocárdio é proveniente de estudo de modelos experimentais, particularmente em ratos.

O modelo experimental de infarto do miocárdio em ratos foi descrito inicialmente por Johns & Olson (1954). O aperfeiçoamento da técnica da ligadura coronariana na década de 70, particularmente no grupo de Braunwald, nos Estados Unidos, trouxe enormes contribuições para a compreensão do processo de remodelamento. Em seguida, serão sumarizados os principais eventos que ocorrem no curso temporal das alterações cardíacas que seguem ao infarto do miocárdio em ratos, desde a oclusão da artéria coronária até o desenvolvimento da insuficiência cardíaca.

1.2.1. Morte Celular

Como resultado da oclusão aguda da artéria coronária, o suprimento metabólico ao tecido é interrompido. Com a persistência da isquemia, inicia-se o processo de morte celular, estabelecendo a irreversibilidade da lesão. No miocárdio isquêmico, as células morrem tanto por necrose quanto por apoptose, sendo que a apoptose interfere ativamente no processo de remodelamento após o infarto (Kajstura et al., 1996; Palojoki et al., 2001).

Após o infarto, a apoptose pode ser detectada em todo o miocárdio, incluindo tanto as áreas isquêmicas quanto aquelas não afetadas pela isquemia (Schwarz et al., 2006). A apoptose pode ser observada tanto em miócitos, como também em outros tipos celulares, como os fibroblastos e células endoteliais (Park et al., 2009). Palojoki et al. (2001) observaram altas taxas de cardiomiócitos em apoptose na área de transição entre o infarto e a cicatriz um dia após a oclusão coronariana em ratos, com redução reduzindo essas taxas com a progressão do remodelamento. Porém, na área não infartada, a apoptose aumenta progressivamente a partir do primeiro dia até a décima segunda semana após o infarto (Palojoki et al., 2001). Isto acontece porque algumas proteínas envolvidas na programação da apoptose se alteram no coração isquêmico. Na fase aguda da injúria, por exemplo, observa-se aumento na expressão de Bax (proteína com ação pró-apoptótica) em paralelo com a redução na expressão de Bcl-2 (proteína com ação anti-apoptótica) (Cheng et al., 1996; Schwarz et al., 2006). Assim, é possível observar redução na razão Bcl-2/Bax apenas 3 horas após a oclusão coronariana (Simonis et al., 2008). Além disso, a ativação da caspase 3 durante a isquemia em associação com a liberação do fator indutor de apoptose (AIF, do inglês “*apoptosis-induced factor*”) tem grande importância na indução precoce da apoptose no miocárdio isquêmico. Em fase mais avançada do infarto, o aumento da atividade simpática está associado ao aumento na expressão proteica de Bcl-xS, contribuindo para aumentar a taxa de apoptose e consequentemente para a extensão da lesão e para o curso do remodelamento ventricular (Prabhu et al., 2003).

A apoptose tem grande repercussão no processo de remodelamento cardíaco após o infarto. Baldi et al. (2002) mostraram uma relação entre o número de

cardiomiócitos em apoptose e a progressão do remodelamento ventricular esquerdo. Além disso, uma associação linear positiva entre a expressão de FasL (uma citocina com ação pró-apoptótica) e a pressão diastólica final do ventrículo esquerdo foi observada em ovelhas com insuficiência cardíaca (Jiang et al., 2003). A inibição da caspase 3 por longo prazo reduziu a fibrose intersticial, a dilatação ventricular, melhorou a função sistólica e aumentou a sobrevida após o infarto (Chandrashekhar et al., 2004; Balsan et al., 2005).

Estes dados indicam que a modulação da apoptose pode se constituir um elemento essencial da terapêutica pós-infarto visando prevenir o remodelamento e o desenvolvimento de insuficiência cardíaca. Este fato foi evidenciado recentemente por Baldo et al. (2011) mostrando que a redução da apoptose durante as primeiras vinte e quatro horas que se seguem à oclusão da artéria coronária esquerda em ratos, é capaz de reduzir a extensão da lesão, atenuando a dilatação ventricular e a progressão para a insuficiência cardíaca.

1.2.2. Inflamação e Remodelamento da Matriz Extracelular

Após a fase de injúria e morte celular aguda, o reparo cardíaco é iniciado com ação direta na estrutura e função do coração. Este processo envolve uma resposta inflamatória que se faz através da mobilização e infiltração celular, com quebra do colágeno em uma fase precoce, sendo seguido pela sua síntese (Frangogiannis, 2006).

Ao longo dos anos tem sido demonstrado que a resposta inflamatória excessiva após o infarto está associada a efeitos deletérios sobre a função e estrutura cardíaca (Jiang & Liao, 2010). Da mesma forma, sua supressão está relacionada a um pior prognóstico em pacientes infartados (Roberts et al., 1976). Assim, estes eventos precoces à oclusão coronariana apresentam um importante alvo para intervenções terapêuticas, uma vez que deles dependem grande parte das alterações cardíacas observadas na fase crônica.

1.2.2.1. Citocinas e Células Inflamatórias

A inflamação é uma resposta aguda à oclusão da artéria coronária, sendo fundamental para o processo de reparo e cicatrização do miocárdio (Frangogiannis, 2008). Quando a isquemia se torna irreversível e os miócitos começam a morrer, várias substâncias com função quimioatáticas são liberadas fazendo com que as células inflamatórias migrem para o miocárdio isquêmico. Essas células são responsáveis pelo processo de absorção do tecido necrótico, além da síntese e liberação de diversos fatores (Frangogiannis & Entman, 2005). A resposta celular à oclusão coronariana aguda inclui infiltração de neutrófilos, sendo observado o pico máximo já no primeiro dia após a oclusão, mantendo-se elevado até o quarto dia. No segundo dia, é observado aumento de macrófagos e linfócitos, permanecendo elevado por mais de quatro semanas (Fishbein et al., 1978; Yang et al., 2002). No miocárdio isquêmico, neutrófilos liberam metaloproteinases (MMP, sigla referente ao inglês “*matrix metaloproteinases*”) que iniciam a degradação do colágeno. Os macrófagos iniciam a fagocitose do tecido necrótico, além de produzir e liberar citocinas para estimular a proliferação de fibroblastos e a intensa produção de colágeno (Lambert et al., 2008; Vilahur et al., 2011).

Com a persistência da isquemia, o conteúdo intracelular das células mortas é exposto, ativando a resposta imune inata. A imunidade inata é a primeira linha de defesa contra infecções, porém fatores endógenos gerados por lesão tecidual também podem ativá-la (Frangogiannis, 2008). Células polimorfonucleares são responsáveis pela resposta celular aguda assim como produção e liberação de citocinas e a ativação do complemento (Valeur & Valen, 2009). A resposta inata é desencadeada pela sinalização dos TLR's (sigla referente ao inglês “*toll like receptors*”), que são proteínas transmembranas que medeiam a sinalização intracelular, estimulando a produção de várias substâncias como citocinas, moléculas de adesão e espécies reativas derivadas do oxigênio (Erickson et al., 2008). Pelo menos 13 TLR's já foram identificados em mamíferos. Porém, no coração os tipos 2 e 4 são os principais envolvidos na resposta ao infarto agudo do miocárdio e na insuficiência cardíaca (Valeur & Valen, 2009). Pouca informação existe sobre a participação dos TLR's nas disfunções cardíacas de diferentes

origens. Por exemplo, usando um camundongo *knockout* para o gene TLR-2, Shishido et al. (2003) observaram melhora na função cardíaca e redução do colágeno intersticial e perivascular após o infarto do miocárdio. Além disso, TLR-4 estão envolvidos nos efeitos deletérios do remodelamento após o infarto, como a proliferação de colágeno no miocárdio remanescente ao infarto e comprometimento da função sistólica (Timmers et al., 2008).

As citocinas são liberadas precocemente após a lesão miocárdica. Elas não são constitutivamente expressas no miocárdio, mas após o infarto passam a ser expressas com grande intensidade (Deten et al., 2002). Elas também participam da resposta inata sinalizando para o reparo tecidual. As citocinas estão envolvidas em diversas etapas no curso temporal do remodelamento cardíaco após o infarto, como indução da apoptose, alterações na matriz extracelular e outras modificações estruturais (Frangogiannis, 2006).

Interleucinas (IL)-6, IL-1 β e o fator de necrose tumoral (TNF- α , sigla referente ao inglês “*tumor necrosis factor*”) são observados precocemente no tecido isquêmico, sendo detectados apenas 3 horas após a oclusão coronariana (Deten et al., 2002; Vandervelde et al., 2007). A relação entre citocinas próinflamatórias e o remodelamento ventricular foi observada por Moro et al. (2007), mostrando que a superexpressão de citocinas inflamatórias coincide com a progressão da disfunção cardíaca e a dilatação do ventrículo esquerdo em ratos após a isquemia seguida por reperfusão. Por exemplo, camundongos *knockout* para TNF- α exibem redução nos eventos de ruptura cardíaca, comparados aos camundongos normais que apresentaram ruptura devido aos elevados níveis dessa citocina (Sun et al., 2004). Além disso, uma significativa correlação positiva foi evidenciada entre IL-1 β e IL-6 e a dilatação do ventrículo esquerdo observada após o infarto em ratos (Ono et al., 1998), mostrando um papel fundamental dessas citocinas para o desenvolvimento do remodelamento após o infarto do miocárdio.

1.2.2.2. Remodelamento da Matriz Extracelular

Como consequência da resposta inflamatória exacerbada e sua persistência durante as fases aguda e subcrônica do infarto, modificações na matriz extracelular irão contribuir para as alterações estruturais do infarto, convergindo para a falência miocárdica. O interstício cardíaco é composto basicamente por colágeno e outros componentes, como fibronectina, laminina e elastina. Vários subtipos de colágeno são encontrados, com os tipos I, III e V predominando no coração (Brower et al., 2006). O colágeno cobre aproximadamente 3% do volume miocárdio, sendo o principal componente responsável pela rigidez das câmaras cardíacas. Portanto, alterações tanto no conteúdo como na distribuição de colágeno determinam grandes alterações nas propriedades passivas da parede miocárdica (Robinson et al., 1988).

Uma importante modificação após a injúria isquêmica é o remodelamento da matriz extracelular, repercutindo na estrutura e função cardíaca. Na fase aguda do infarto colágeno é rapidamente degradado. A perda do colágeno situado entre os miócitos e a redução do espaço intersticial contribui para o deslizamento dos feixes de miócitos (evento conhecido como “slippage”) que contribui para a redução da espessura da parede ventricular e dilatação da câmara ventricular (Olivetti et al., 1990; Whittaker et al., 1991), conforme esquema da parte inferior da Figura 2.

A expressão miocárdica de citocinas profibróticas, como o TGF- β (sigla derivada do inglês “*transforming growth factor*”), está significativamente aumentada a partir do segundo dia após a oclusão coronariana, permanecendo elevada pelas quatro semanas subseqüentes (Deten et al., 2001; Deten et al., 2005). TGF- β induz a conversão de fibroblastos em miofibroblastos, levando à produção e deposição de colágeno no miocárdio (Bujak & Frangogiannis, 2007). Além disso, o TGF- β suprime a atividade das metaloproteinases (MMPs) pela indução de seus inibidores teciduais (TIMP, do inglês “*tissue inhibitor of matrix metalloproteinase*”) (Bujak & Frangogiannis, 2007). Um outro fator profibrótico, o fator de crescimento do tecido conjuntivo (CTGF, do inglês “*Connective Tissue Growth Factor*”), está envolvido na produção de colágeno no miocárdio infartado. Sua expressão é detectada no miocárdio remanescente ao infarto a partir da segunda semana após o infarto,

evidenciando a participação da mesma no desenvolvimento da fibrose reativa após o infarto, isto é, aquela que ocorre remotamente à região isquêmica e que também contribui para alteração das propriedades passivas das câmaras cardíacas (Ohnishi et al., 1998; Dean et al., 2005).

Como resultado da ativação da cascata de citocinas, a expressão do RNAm para o colágeno é detectada no ventrículo esquerdo já no terceiro dia após o infarto (Cleutjens et al., 1995). Como consequência, grande deposição de colágeno já pode ser observada tanto na área infartada como também na área não infartada a partir do terceiro dia após a oclusão coronariana, aumentando até o vigésimo oitavo dia (Cleutjens et al., 1995; Milanez et al., 1997; Sun et al., 2000). Evidenciando a importância fundamental da matriz extracelular para a função cardíaca, Baicu et al. (2003) observaram em músculos papilares isolados que o desempenho sistólico era progressivamente reduzido na medida em que o colágeno fibrilar era farmacologicamente degradado. De forma semelhante, camundongos com superexpressão de MMP-1 apresentaram progressiva perda da função cardíaca, evidenciando a importante participação do colágeno e de suas vias regulatórias na patogênese da insuficiência cardíaca (Kim et al., 2000).

A matriz extracelular é finamente regulada por vários fatores. As MMP's são enzimas essenciais envolvidas na dinâmica da matriz extracelular. Elas são proteases e participam da degradação do colágeno (Creemers et al., 2001). Foi descrito que uma forma intersticial, a MMP-13, é expressa precocemente após o infarto do miocárdio em ratos. Outros tipos de collagenases, como por exemplo a MMP-8 (MMP derivada de neutrófilos) é altamente expressa na fase subcrônica da cicatrização (Peterson et al., 2000). Assim, tem sido proposto que a inibição das MMP's preserve a função cardíaca por acelerar o processo de reparo. Dessa forma, Apple et al. (2006) observaram que a inibição das MMP's em porcos infartados melhorou a função ventricular esquerda. Além disso, uma importante observação foi feita por Spinale et al. (2006) mostrando que o tratamento, a curto prazo, com inibidor de MMP após o infarto estava associado à preservação da função e estrutura e aumento de sobrevida; diferente do observado com o tratamento a longo prazo que evidenciou dilatação ventricular e aumento da mortalidade (Apple et al., 2006). Esses resultados em conjunto reforçam a idéia de que intervenções que afetam a matriz extracelular

estão associadas a melhoras no curso do remodelamento após o infarto, chamando a atenção para o tempo de início e duração das intervenções farmacológicas.

É importante ressaltar que no miocárdio isquêmico, inflamação e remodelamento de matriz extracelular estão envolvidos no processo de reparo tecidual, e que esses processos são atuais alvos terapêuticos no tratamento da insuficiência cardíaca. A Figura 2 mostra esquematicamente o curso temporal das alterações ventriculares após o infarto.

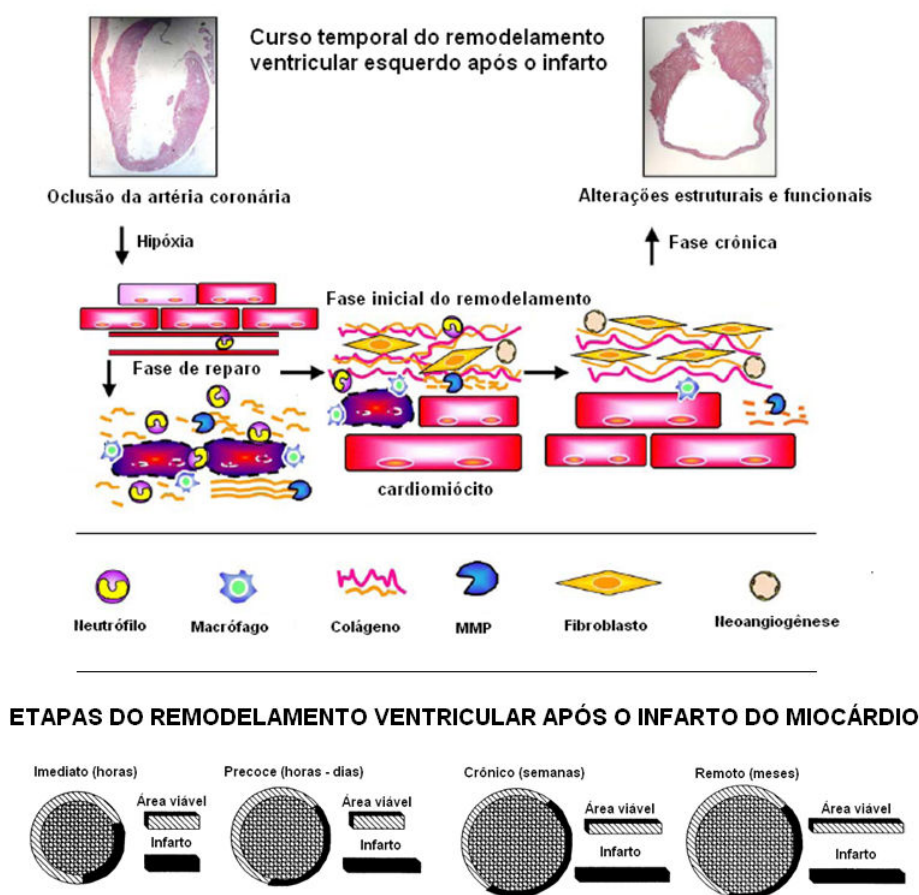


Figura 2. Curso temporal das alterações ventriculares após o infarto do miocárdio (Adaptado de Vanhoutte et al., 2006). Na parte inferior da figura estão ilustradas as etapas do remodelamento ventricular esquerdo após o infarto, chamando a atenção para as alterações de espessura de parede e de volume da câmara ventricular (Adaptado de Paul, 2003).

1.3. Ativação Neurohumoral no Curso do Remodelamento Ventricular

A perda de função sistólica no coração infartado inicia uma resposta adaptativa com o intuito de manter o débito cardíaco em valores normais. Essa resposta adaptativa, que se faz através de uma maciça ativação neurohumoral, tem como objetivo recuperar a homeostase. Porém, quando a ativação neurohumoral está exacerbada e se estende por um período prolongado, seus efeitos conduzem progressivamente à falência miocárdica. A vertente neural do sistema é representada pelo sistema nervoso simpático e a vertente humoral depende basicamente da ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona.

1.3.1. Ativação Adrenérgica

A hiperatividade do sistema nervoso simpático está diretamente associada à disfunção contrátil (Brum et al., 2006), hipertrofia cardíaca (Marano et al., 2002), morte celular (Prabhu et al., 2003), produção de citocinas pró-inflamatórias (Murray et al., 2000), dilatação ventricular (Machackova et al., 2010) e arritmias (Du et al., 1999). O sistema nervoso simpático está precocemente hiperativado após o infarto do miocárdio (Karlsberg et al., 1979), contrário ao observado com o sistema nervoso parassimpático, que apresenta redução da responsividade ao longo do processo de remodelamento (Módolo et al., 1995). Essa hiperatividade simpática pode também ser evidenciada pelo aumento da frequência cardíaca durante a fase aguda do infarto (Mill et al., 1991). Os níveis plasmáticos e teciduais de catecolaminas aumentam após o infarto do miocárdio em ratos (Ganguly et al., 1997). Além disso, o *turnover* da norepinefrina aumentam em ratos com insuficiência cardíaca indicando elevado tônus simpático (Patel et al., 2000).

Em animais infartados, a sensibilidade do baroreflexo se encontra reduzida (Meyrelles et al., 1996), sendo que o comprometimento do baroreflexo está associado à magnitude da disfunção ventricular (Henze et al., 2008). Além disso, parte dessa depressão baroreflexa é causada pela redução da atividade e

responsividade vagal (Módulo et al., 1995; Krüger et al., 1997). O reflexo cardiopulmonar se encontra preservado na fase aguda, mas tem sua atividade comprometida com a evolução do remodelamento (Meyrelles et al., 1997).

Os receptores β -adrenérgicos medeiam as respostas cardiovasculares elicítadas pelo sistema nervoso simpático no sistema cardiovascular. Três tipos de receptores β -adrenérgicos são encontrados no coração. O receptor β_1 é o mais abundante (aproximadamente 70 a 80% do total), sendo acoplado a proteína G estimulatória, o que ocorre também com o receptor β_2 . A ativação desse receptor aumenta a contratilidade e melhora o relaxamento, aumenta a frequência cardíaca e facilita a condução átrio-ventricular (El-Armouche & Eschenhagen, 2009). O terceiro subtipo de receptor β -adrenérgico, β_3 tem um efeito oposto sobre a contratilidade e o cronotropismo quando comparado aos outros dois receptores. Seus efeitos não estão totalmente esclarecidos, porém, efeitos antiarrítmicos (Zhou et al., 2008) e vasodilatadores (Gauthier et al., 1998) têm sido descritos.

A ativação simpática crônica induz modificações na sinalização dos receptores β -adrenérgicos, afetando diretamente o acoplamento excitação-contração (Triposkiadis et al., 2009). Após hiperatividade simpática crônica, a expressão gênica e protéica do receptor β_1 é reduzida no coração. Além disto, a responsividade do receptor diminui, processo conhecido como dessensibilização (Perrino et al., 2007). A dessensibilização do receptor β_1 é iniciada com a fosforilação do receptor, seguida pelo seu desacoplamento e endocitose, fato que contribui para a redução na densidade desse receptor na membrana. O processo de dessensibilização é mediado por uma família de proteínas acopladas à proteína G, conhecidas como GRKs (sigla derivada do inglês "*G protein-coupled receptor kinase*"). A principal isoforma no coração é a quinase do receptor β (β -ARK) tipo 1 (também conhecida como GRK2). A β -ARK1 forma um complexo com a enzima fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K, sigla derivada do inglês "*phosphatidylinositol 3-kinase*") mediando a endocitose do receptor (Perrino et al., 2005). Este processo está bastante ativo na insuficiência cardíaca.

A origem da ativação simpática no período pós-infarto ainda é pouco conhecida, podendo ser decorrente tanto da estimulação de receptores intramiocárdicos como também da disfunção de barorreceptores ou de receptores de volume. Outro

mecanismo proposto para explicar a gênese da hiperatividade simpática após infarto e na insuficiência cardíaca é a ativação do sistema renina-angiotensina cerebral (Westcott et al., 2009). Com o aumento dos níveis circulantes de angiotensina II (ANG II) e sua ação no órgão subfornical, vias angiotensinérgicas são ativadas no núcleo paraventricular. A participação da ANG II central no remodelamento após o infarto foi evidenciada pela verificação de que o bloqueio dos receptores AT_1 no sistema nervoso central foi mais efetivo em prevenir a disfunção cardíaca quando comparado ao bloqueio periférico (Huang et al., 2009). Os níveis de aldosterona e do seu receptor estão aumentados no hipotálamo de ratos infartados. A aldosterona estimula a “ouabaína endógena”, contribuindo para a liberação local de ANG II e para aumentar a sensibilidade do receptor AT_1 à estimulação. Este fato foi confirmado por Wang et al. (2004) após o infarto em ratos com deficiência na expressão do angiotensinogênio cerebral. Foi observada redução da disfunção ventricular através da atenuação do tônus simpático. Além disto, injeções intracerebroventriculares de captopril após o infarto em ratos melhoram a disfunção diastólica (Araújo et al., 2009). De forma semelhante, a hiperatividade simpática pode ser reduzida através do bloqueio central do receptore mineralocorticoide, uma vez que a aldosterona medeia parte desse processo (Huang & Leenen et al., 2005). A figura 3 ilustra os efeitos do infarto do miocárdio sobre a ativação do SNS.

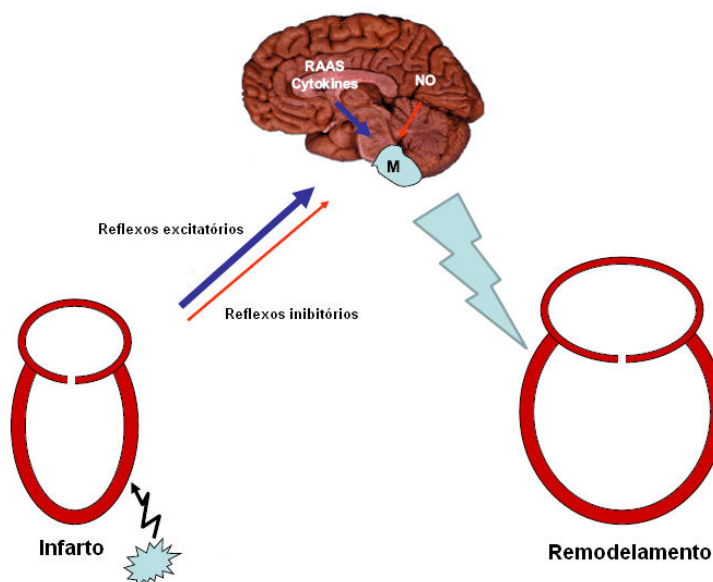


Figura 3. Esquema mostrando os efeitos da hiperativação adrenérgica após o infarto do miocárdio. Adaptado de Triposkiadis et al., (2009).

1.3.2. Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona Cardíaco

O sistema renina-angiotensina-aldosterona participa ativamente da regulação do balanço hidro-eletrolítico e da regulação da pressão arterial (Gensini et al., 2002). Fisiologicamente, o angiotensinogênio é liberado pelo fígado, sendo clivado na circulação pela renina, uma enzima secretada pelo aparelho justaglomerular do rim. O produto formado, o decapeptídeo angiotensina I é clivada pela enzima conversora de angiotensina (ECA) presente principalmente nas células endoteliais formando o octapeptídeo ANG II. A ANG II é o principal efetor do sistema, agindo em receptores específicos na superfície de vários tipos celulares (Paul et al., 2006; Santos et al., 2008). Dentre os efeitos associados à ANG II, pode-se citar a vasoconstrição do músculo liso vascular, estimulação da produção de aldosterona, estimulação da liberação de catecolaminas, o aumento da atividade simpática e estimulação da sede e do apetite (Fitzsimons, 1998; Paul et al., 2006). A via clássica de formação de ANG II está ilustrada na Figura 4.

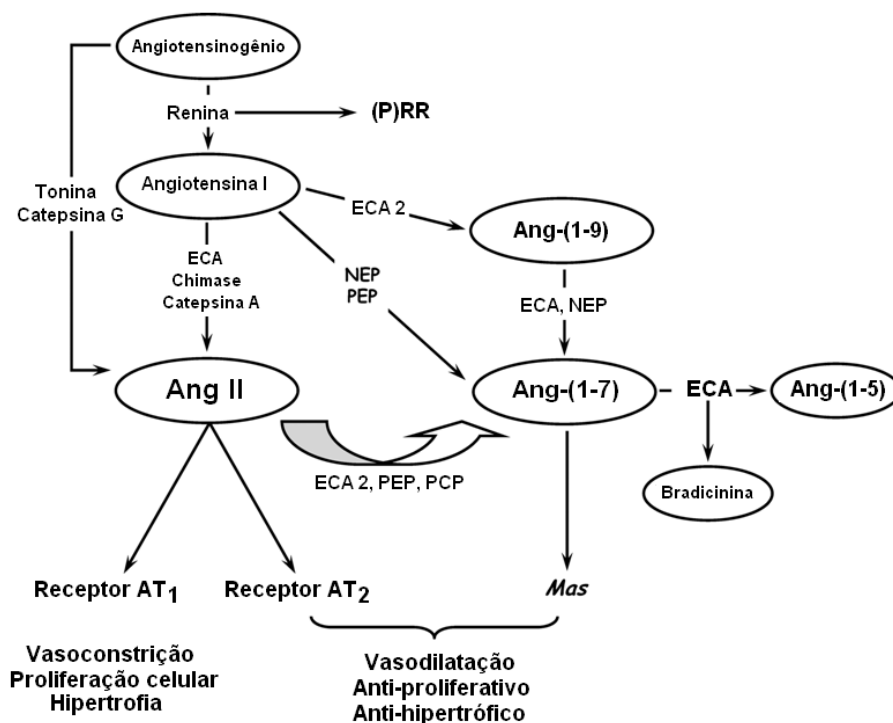


Figura 4. Esquema mostrando as vias do sistema renina-angiotensina. Adaptado de Santos et al., (2008).

Mais recentemente tem-se observado que a ANG II e outros peptídeos relacionados a este sistema exercem também efeitos diferentes daqueles associados à regulação fisiológica do volume extracelular e da homeostase iônica. Estes efeitos não estão apenas relacionados aos seus componentes circulantes, mas também a um efeito parácrino em diferentes tecidos (Paul et al., 2006). O sistema renina-angiotensina-aldosterona local já foi descrito por vários autores, estando ativado no coração diante de inúmeras condições como, por exemplo, no infarto do miocárdio e na insuficiência cardíaca. Um fato importante a ser considerado é que a regulação dos sistemas locais parece ser totalmente independente do sistema renina-angiotensina circulante (Dostal et al., 1992; Barlucchi et al., 2001; Resende & Mill, 2002; Sun, 2010; Studer et al., 1994; Sadoshima et al., 1993; Dzau et al., 1988; Paul et al., 2006; Lindpaintner et al., 1987; Ferreira et al., 2008).

Vários estudos indicam que o miocárdio é capaz de produzir todos os componentes do sistema renina-angiotensina aldosterona e que todo este sistema seria ativado após infarto. A renina e o angiotensinogênio são produzidos no miocárdio após o infarto principalmente por macrófagos e fibroblastos (Passier et al., 1996). Além disso, a ECA é altamente sintetizada em células endoteliais de coronárias, assim como por macrófagos (Sun and Weber, 1996). Após o infarto, a atividade da ECA aumenta no plasma e no miocárdio, junto com a elevação nos níveis de angiotensina II no coração (Busatto et al., 1997; Resende et al., 2006; Xu et al., 2008). Outro ponto importante nessa via é a indução da produção de aldosterona pela angiotensina II através do seu receptor AT_1 (Paul et al., 2006). Angiotensina II e aldosterona induzem hipertrofia cardíaca (Liu et al., 1998; Lijnen and Petron, 1999), aumento na deposição de colágeno no coração (Silvestre et al., 1999), apoptose (Cigola et al., 1997), contribuindo para o comprometimento hemodinâmico e para a progressão da insuficiência cardíaca. A Figura 5 ilustra o sistema renina-angiotensina no coração.

similar à angiotensina II, a aldosterona aumenta o colágeno no miocárdio remanescente ao infarto em ratos, além de haver indução do receptor mineralocorticóide no ventrículo esquerdo (Resende et al., 2006). Aparentemente a angiotensina II agiria sinergicamente à aldosterona estimulando a fibrose reativa no coração infartado. O bloqueio farmacológico da aldosterona também impede os efeitos deletérios da hiperatividade simpática no coração de ratos (Bos et al., 2005), mostrando que pode haver interação entre os dois sistemas contribuindo para o remodelamento ventricular. A angiotensina II é o principal hormônio estimulante da produção de aldosterona no córtex adrenal. Essa relação, entretanto, parece não existir no coração. Por exemplo, Katada et al. (2005), usando camundongos com deleção gênica do receptor AT_1 , mostraram que a produção de aldosterona não foi suprimida nesses animais. Este fato sugere que, no coração, a aldosterona pode ser produzida por uma via independente da angiotensina II. Por outro lado, Lemarié et al. (2009) demonstraram que a atividade da aldosterona depende da ativação do receptor AT_1 . Outro efeito relacionado à aldosterona foi recentemente relatado. O tratamento com a eplerenona reduz os efeitos deletérios do remodelamento e melhora a função ventricular esquerda por modular a resposta inflamatória aguda após o infarto em ratos (Fraccarollo et al., 2008), além de melhorar a função endotelial em aorta por redução do estresse oxidativo (Sartório et al., 2007). A resposta sobre o reparo cardíaco foi mediada pela aceleração da infiltração de macrófagos e absorção do tecido necrótico. Essa ligação entre o sistema renina-angiotensina e a atividade inflamatória foi descrita previamente por Nabah et al. (2004), mostrando que a angiotensina II está envolvida no recrutamento de neutrófilos através da liberação de quimiocinas. Este efeito contribui para o aumento na infiltração de neutrófilos no miocárdio isquêmico, gerando uma atividade inflamatória excessiva e culminando com a expansão ventricular. Uma importante observação foi feita por Gurantz et al. (2005) em que $IL-1\beta$ e $TNF-\alpha$ aumentam a expressão do receptor AT_1 em fibroblastos em cultura e em corações de ratos infartados. A estimulação do receptor AT_1 em fibroblastos leva ao aumento na expressão de CTGF no miocárdio remanescente (Ahmed et al., 2005), mostrando uma ligação entre a atividade inflamatória e a ANG II na deposição de colágeno no miocárdio. De forma semelhante, o bloqueio dos receptores AT_1 reduz a expressão de $TGF-\beta$ no miocárdio impedindo a proliferação da fibrose (Youn et al., 1999).

Além do receptor AT_1 já descrito, um segundo tipo de receptor para a ANG II tem sido descrito como tendo influência expressiva no processo do remodelamento após o infarto. Apesar da escassez de descrições sobre seus efeitos, acredita-se que a estimulação do receptor AT_2 exerça efeitos antagônicos aos relatados para o receptor AT_1 . Por exemplo, a deleção do receptor AT_2 cardíaco em camundongos infartados aumenta a mortalidade e exacerba os efeitos do remodelamento (Adachi et al., 2003). Além disto, a estimulação farmacológica do receptor AT_2 tem efeitos anti-apoptóticos e anti-inflamatórios após o infarto em ratos, melhorando a função ventricular (Kaschina et al., 2008).

Diante do que foi exposto, pode-se perceber que a ativação neurohormonal é responsável por modificações marcantes que acometem o miocárdio após o infarto, contribuindo para o desenvolvimento da insuficiência cardíaca. Diante disso, não é difícil entender as razões pelas quais os inibidores da ECA e os β -bloqueadores estão elencados como fármacos indispensáveis na terapia padrão para o tratamento do infarto agudo do miocárdio e da insuficiência cardíaca (Antman et al., 2004; Dickstein et al., 2008).

1.4. Evolução do Tratamento da Insuficiência Cardíaca

O tratamento do infarto do miocárdio e da insuficiência cardíaca decorrente do mesmo tem sido objeto de inúmeros estudos realizados em modelos animais e em humanos. Mesmo excluindo as terapias anticoagulantes e antitrombóticas e focando apenas na terapia anti-remodelamento, ainda é grande número de trabalhos nessa área. Para ilustrar este fato, realizando uma busca no site do PUBMED utilizando como palavras-chave “*heart failure*” ou “*myocardial infarction*”, obtem-se 113571 trabalhos e 165623 artigos, se incluídos os editoriais e as revisões.

Por muito tempo, a terapia farmacológica da insuficiência cardíaca após o infarto foi reetringiu-se ao uso de digitálicos e diuréticos (Bruce, 1906; Evans, 1937; Rudolf, 1925; Kerr, 1923; Weston et al., 1952; Whittaker, 1955; Platts and Hanley, 1956;

Briggs, 1957; Fletcher and Brennan, 1958; Dodek, 1974), garantindo resultados satisfatórios no tratamento da insuficiência cardíaca crônica, uma vez que até então, usavam-se estratégias paliativas para o controle dos sintomas. Porém, com o aumento exponencial na incidência de infarto agudo do miocárdio e da alta taxa de mortalidade referente à progressão para a insuficiência cardíaca observada na metade do século XX, fazia-se necessário a incorporação de novas opções terapêuticas. Na década de 1960 os β -bloqueadores foram propostos para o tratamento do infarto agudo do miocárdio. Porém, essa descrição será feita em um tópico específico mais adiante.

A revolução no tratamento do infarto agudo do miocárdio e da insuficiência cardíaca veio com a descoberta dos inibidores da ECA. Os primeiros estudos utilizando essas drogas em pacientes com infarto agudo do miocárdio e insuficiência cardíaca começaram no início da década de 1980, utilizando pequeno número de pacientes (Bounhoure et al., 1982; Rouleau et al., 1982; Brivet et al., 1981). Em um desses, Sharpe et al. (1984) randomizaram 36 pacientes com insuficiência cardíaca crônica em classe funcional II e III (pelos critérios da NYHA, sigla referente ao inglês “New York Heart Association”), para receber enalapril (n=18) ou placebo (n=18). Após três meses de tratamento, os pacientes que receberam enalapril apresentavam maior tolerância ao exercício e menor dilatação ventricular, o que se traduzia em presença de classe funcional menor. Concomitantemente, os inibidores da ECA foram introduzidos ao tratamento do infarto agudo do miocárdio. Segundo Brivet et al. (1981), o uso de captopril em pacientes com disfunção sistólica do ventrículo esquerdo após o infarto agudo do miocárdio reduzia a pressão de enchimento ventricular e aumentava o débito cardíaco. A partir daí, diversos estudos foram publicados utilizando inibidores da ECA em pacientes infartados com resultados bastante satisfatórios (Westing et al., 1983; Mattioli et al., 1986; McAlpine et al., 1987).

Diante dos resultados encontrados em estudos menores, o delineamento de grandes estudos foi encorajado com o objetivo de avaliar desfechos como mortalidade e hospitalização. A efetivação dos inibidores da ECA como terapia padrão para a insuficiência cardíaca crônica veio com a divulgação dos resultados de grandes estudos clínicos randomizados. O primeiro deles, o estudo CONSENSUS (sigla referente ao inglês “*Cooperative New Scandinavian Enalapril Survival Study*”)

randomizou 253 pacientes com insuficiência cardíaca severa (classe funcional NYHA IV) para receber enalapril ou placebo. Foi observada uma redução relativa de 40% na mortalidade dentro dos seis meses iniciais, e 31% após um ano após a randomização nos pacientes tratados com enalapril (The CONSENSUS Trial Study Group, 1987). De forma similar, o estudo SOLVD (do inglês "*Studies of Left Ventricular Dysfunction*") mostrou que a adição do enalapril à terapia da insuficiência cardíaca (classe funcional II e III) estava associada à redução de 16% no risco de morte (The SOLVD Investigators, 1991).

O estudo CONSENSUS II (sigla referente ao inglês "*Cooperative New Scandinavian Enalapril Survival Study II*") randomizou 6090 pacientes com infarto agudo do miocárdio para receber enalapril (3044 pacientes) ou placebo (3046 pacientes) dentro das primeiras 24 horas do início dos sintomas (Swedberg et al., 1992). Porém, os resultados não foram muito satisfatórios. Não houve diferença significativa na mortalidade, havendo grande tendência ($P = 0,06$) ao aumento da mortalidade por insuficiência cardíaca no grupo que recebeu enalapril. Os autores justificaram os resultados por um possível efeito hipotensor do enalapril (Swedberg et al., 1992). Alguns estudos posteriores tentaram explicar os resultados desse estudo. Por exemplo, Nguyen et al. (1997) mostraram que a possível interação entre enalapril e aspirina seria responsável pelo aumento da mortalidade. Em outro estudo, porém, a adição de um inibidor da ECA (captopril ou enalapril) a pacientes dentro das 24 horas do início dos sintomas do infarto agudo do miocárdio melhorou a função cardíaca evidenciada pelo aumento da fração de ejeção e redução da dilatação ventricular três meses após o início do tratamento (Foy et al., 1994). De forma semelhante, o tratamento com zofenopril reduziu a mortalidade e a incidência de insuficiência cardíaca tanto em curto quanto em longo prazo (Ambrosini et al., 1995).

Outra forma de inibição do sistema renina-angiotensina foi introduzida posteriormente na prática clínica, através do antagonismo dos receptores AT_1 . Após diversos resultados favoráveis obtidos em modelos experimentais de infarto do miocárdio, os antagonistas dos receptores AT_1 começaram a ser testados na clínica (Hu et al., 1998; Kuno et al., 2002). Como exemplo, o estudo CHARM (do inglês "*Candesartan in Heart Failure Assessment of Reduction in Mortality and Morbidity*") randomizou 4569 pacientes diagnosticados com insuficiência cardíaca crônica para

receber candesartan ou placebo. Houve uma redução significativa da mortalidade e hospitalização no grupo que recebeu candesartan (Young et al., 2004). Um aspecto importante que deve ser levado em consideração é que o candesartan foi administrado a pacientes em uso da terapia padrão com inibidores da ECA e β -bloqueadores.

Em outro estudo, dessa vez comparando os efeitos de um inibidor da ECA (captopril) com os efeitos de um antagonista do receptor AT_1 (valsartan) em pacientes após o infarto agudo do miocárdio, mostrou que o valsartan possui efetividade similar ao captopril em reduzir a mortalidade e melhorar a função cardíaca (Pfeffer et al., 2003). De forma similar, o estudo OPTIMAAL (do inglês "*Optimal Trial in Myocardial Infarction with the Angiotensin II Antagonist Losartan*") comparou os efeitos do captopril e do losartan em indivíduos recém infartados. Apesar de não alcançar diferenças estatisticamente significantes, observou-se grande tendência favorável ao uso do captopril (Dickstein et al., 2002). Interessante, os autores desse estudo concluíram pelo uso dos inibidores da ECA ao losartan após o infarto do miocárdio, sendo que este último pode ser considerado alternativa quando a administração de um inibidor da ECA não for tolerado. Após esse estudo, essa passou a ser a recomendação para o tratamento da insuficiência cardíaca após o infarto (Antman et al., 2004).

A Figura 6 ilustra a evolução terapêutica na insuficiência cardíaca e o impacto de cada nova classe terapêutica introduzida à terapia na mortalidade ao longo de 1 ano após o evento isquêmico.

Sobrevida na Insuficiência Cardíaca Crônica

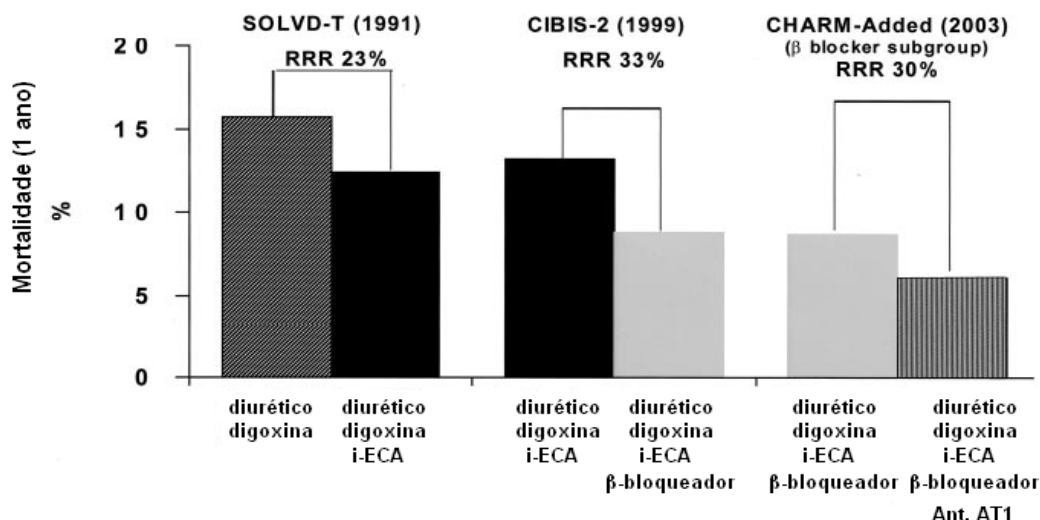


Figura 6. Impacto da adição de novos fármacos à terapia da insuficiência cardíaca sobre a mortalidade. A sigla RRR é referente a “redução do risco relativo”. Adaptado de McMurray et al., 2004.

1.5. Uso de β -Bloqueadores no Tratamento do Infarto Agudo do Miocárdio e da Insuficiência Cardíaca Crônica

Os primeiros relatos do uso de β -bloqueadores para o tratamento do infarto agudo do miocárdio datam de meados dos anos 1960 (Snow, 1965; Balcon et al., 1966; Lal et al., 1966). Em um desses estudos, Bay et al. (1967) administraram propranolol (5mg, iv) a oito pacientes com evidências clínicas e eletrocardiográficas de infarto agudo do miocárdio. Os autores associaram a redução no débito cardíaco observada à queda significativa da frequência cardíaca. Além disso, três pacientes apresentaram redução súbita do débito cardíaco logo após a administração do propranolol. Em outro estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, Norris et al. (1968) testaram os efeitos do propranolol em pacientes com infarto agudo do miocárdio. Porém, não foram observadas diferenças significativas em relação à mortalidade e arritmias severas. Baseado nessas primeiras evidências e

na esperada redução da contratilidade associada ao bloqueio β -adrenérgico, os β -bloqueadores foram subutilizados no tratamento da insuficiência cardíaca e da disfunção sistólica após o infarto do miocárdio.

Com a evolução dos estudos, observou-se que a administração de propranolol imediatamente ao início dos sintomas de infarto agudo do miocárdio está relacionada à redução de mortes e eventos cardiovasculares (Davies, 1974). Em um outro estudo realizado por Hansteen et al. (1982), a administração de propranolol precocemente ao infarto agudo do miocárdio e sua continuação por um ano reduziu a incidência de morte súbita. Além disto, inúmeros relatos disponíveis na literatura científica mostram efeitos de diferentes β -bloqueadores na redução das arritmias cardíacas (Sloman et al., 1965; Sandler & Pistevos, 1971; Rymaszewski et al., 1972). Uma meta-análise compilou estudos que utilizaram β -bloqueadores após o infarto agudo do miocárdio, evidenciando o benefício dessa classe farmacológica (Freemantle et al., 1999). Assim, a Sociedade Americana de Cardiologia passou a recomendar a administração de β -bloqueadores orais dentro das primeiras 24 horas após a isquemia, com nível máximo de evidências (Ryan et al., 1999).

Com o desenvolvimento da farmacologia, novos β -bloqueadores surgiram. Os efeitos benéficos desses novos β -bloqueadores foram evidenciados em grandes estudos clínicos, em pacientes após o infarto agudo do miocárdio e na insuficiência cardíaca crônica. Um grande estudo randomizou pacientes com infarto agudo do miocárdio (fração de ejeção $< 40\%$) para receber carvedilol ou placebo dentro dos primeiros 21 dias ao início dos sintomas. A análise dos efeitos agudos desta intervenção mostrou que dentro dos primeiros 30 dias de tratamento, houve redução significativa do número de eventos (mortalidade por todas as causas, parada cardíaca e infarto não-fatal) associada ao tratamento com carvedilol (Fonarow et al., 2007). Nesse mesmo estudo, a avaliação dos efeitos a longo-prazo mostrou redução de 23% na mortalidade pelo carvedilol após seguimento médio de 1,3 anos (The CAPRICORN Investigators, 2001).

Os resultados obtidos após o infarto agudo do miocárdio foram observados também na insuficiência crônica. O primeiro estudo randomizado com o propósito de avaliar o efeito dos β -bloqueadores de nova geração na insuficiência cardíaca crônica foi o estudo CIBIS (sigla derivada do inglês "*The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study*")

(CIBIS Investigators and Committees, 1994). Este estudo, desenhado para avaliar o efeito da terapia com bisoprolol sobre a mortalidade, foram incluídos pacientes (321 no grupo placebo, e 320 no grupo bisoprolol) entre 18 e 75 anos, com insuficiência cardíaca em classe funcional III ou IV. Porém, ao final de aproximadamente dois anos de seguimento, não foi observada redução significativa da mortalidade associada ao tratamento (redução não significativa de 20% na mortalidade no grupo que recebeu bisoprolol). Alguns dos possíveis motivos para o insucesso do CIBIS foram corrigidos no CIBIS-II (CIBIS-II Investigators and Committees, 1999). Neste novo estudo, agora com um número maior de pacientes randomizados (1320 no grupo placebo, e 1327 no grupo bisoprolol), e tendo como dose alvo 10 mg ao dia (no CIBIS a dose alvo era de 5 mg ao dia), os pacientes foram seguidos por um período médio de 1,3 anos, diante da recomendação para a interrupção precoce do estudo. Essa recomendação foi baseada na redução de 34% no risco de morte evidenciada pelo estudo até aquele momento.

Posteriormente, vários estudos foram sendo realizados a fim de testar diferentes β -bloqueadores. Estudo realizado por Packer et al. (1996) randomizou pacientes diagnosticados com insuficiência cardíaca para receber carvedilol ou placebo. Após um seguimento médio de 6,5 meses, o estudo foi interrompido pelo comitê de monitoramento de desfechos devido à redução de 65% no risco relativo de morte. De forma similar, outro grande estudo randomizado para avaliar os efeitos do carvedilol na insuficiência cardíaca severa foi o COPENICUS (sigla derivada do inglês "*Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival Study Group*") (Packer et al., 2001). Este estudo randomizou 2289 pacientes diagnosticados com insuficiência cardíaca classe funcional III ou IV, apresentando fração de ejeção abaixo de 25%. Após um tempo de seguimento médio de aproximadamente 10 meses e uma redução de 35% na mortalidade, o estudo foi interrompido.

Além disto, a comparação entre diferentes β -bloqueadores em pacientes com infarto agudo do miocárdio mostrou que os β -bloqueadores seletivos para receptores beta-1 (atenolol e metoprolol) têm melhores efeitos em relação à sobrevida comparados aos obtidos com o uso do beta bloqueador não seletivo padrão, o propranolol (Gottlieb & McCarter, 2001). Outro β -bloqueador que apresentou resultados favoráveis em pacientes infartados foi o carvedilol. Isso pôde ser evidenciado quando a comparação entre o carvedilol e o metoprolol em pacientes com

insuficiência cardíaca mostrou ampla vantagem em favor do carvedilol (Metra et al., 2000; Torp-Pedersen et al., 2005).

A Tabela 1 apresenta alguns dos principais estudos clínicos utilizando β -bloqueadores na insuficiência cardíaca, tendo a mortalidade como desfecho primário.

Tabela 1. Características dos estudos clínicos randomizados utilizando beta-bloqueadores em pacientes com insuficiência cardíaca crônica, tendo como desfecho primário a mortalidade

Estudo	N	Fármaco	Dose máxima (mg)	Idade	Etiologia (% isquemia)	NYHA	FEVE (%)	Seguimento (meses)
CIBIS-I	641	Bisoprolol	5	60	55	III – IV	<40	22
Colucci et al. 1996	1094	Carvedilol	50	58	48	II – IV	<35	6,5
CIBIS-II	2647	Bisoprolol	10	61	50	III – IV	<35	16
Hjalmarson et al. 2000	3991	Metoprolol CR/XL	200	63	65	III – IV	≤40	12
Packer et al. 2001	2289	Carvedilol	25	63	67	III – IV	<25	10
BEST	2708	Bucindolol	100	60	58	III – IV	<35	24
Flather et al. 2005	2128	Nebivolol	10	76	68	I – IV	36	21
Bristow et al. 1996	345	Carvedilol	25	60	55	II – IV	≤35	6
Packer et al. 1996	278	Carvedilol	50	60	73	II – IV	≤35	6
McKelvie et al. 2003	426	Metoprolol CR	200	61	69	II – IV	<40	6

N, amostra representada por todos os indivíduos arrolados no estudo. FEVE, fração de ejeção do ventrículo esquerdo na linha de base do estudo.

A Figura 7 apresenta a compilação de alguns estudos mostrando o impacto da terapia com β -bloqueadores na mortalidade (painel superior) e hospitalização (painel inferior) em pacientes com insuficiência cardíaca crônica.

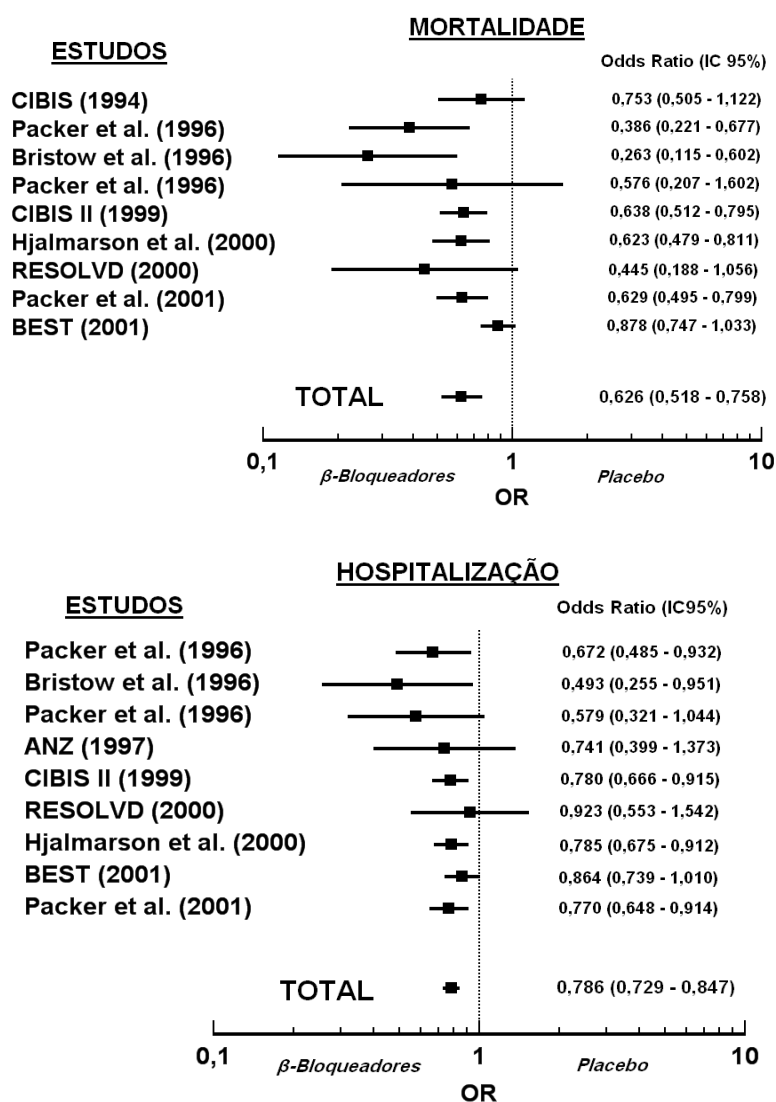


Figura 7. Forest plot mostrando o efeito do tratamento com β -bloqueador sobre a mortalidade e a hospitalização em pacientes com insuficiência cardíaca crônica.

1.6. Tratamento do Infarto Agudo do Miocárdio e da Insuficiência Cardíaca Recém Diagnosticada: Questão em Debate

Por muito tempo, a recomendação das duas maiores sociedades de cardiologia do mundo, a americana (AHA, referente à sigla em inglês “*American Heart Association*”) e a européia (ESC, referente à sigla em inglês “*European Society of Cardiology*”) foi de iniciar o tratamento da insuficiência cardíaca com inibidor da ECA (Antman et al., 2004; Dickstein et al., 2008). Porém, devido às recentes evidências em relação aos β -bloqueadores, uma importante questão foi levantada em relação à terapia da insuficiência cardíaca: para o infarto agudo do miocárdio e os novos casos de insuficiência cardíaca diagnosticados: qual das duas classes farmacológicas seria mais eficaz para iniciar o tratamento? (Fang, 2005; Remme, 2005; Remme, 2007). Com base nesse questionamento, alguns estudos investigaram essa questão. O estudo CARMEN (sigla referente ao inglês “*The Carvedilol and ACE-Inhibitor Remodelling Mild Heart Failure Evaluation Trial*”), por exemplo, randomizou pacientes com insuficiência cardíaca com grau moderado para receber carvedilol, enalapril, ou a associação dos dois fármacos (Remme, 2001). Foi observado um efeito significativo da associação dos dois fármacos nos parâmetros de remodelamento ventricular comparado aos tratamentos individuais (Remme et al., 2004). Porém, nem sempre a terapia combinada pode ser utilizada.

Além disso, pacientes com diagnóstico recente de miocardiopatia dilatada idiopática, classe funcional II ou III e fração de ejeção $< 40\%$, foram randomizados para receber carvedilol (38 pacientes) ou perindopril (40 pacientes) durante seis meses. Após essa fase, foi adicionado um segundo fármaco (perindopril para o grupo que iniciou com carvedilol, e carvedilol para o grupo que iniciou com perindopril) por mais seis meses. Quando o tratamento foi iniciado com carvedilol, houve maior incremento na fração de ejeção e maior migração para classes funcionais mais baixas comparado ao grupo que recebeu perindopril (Sliwa et al., 2004). De forma semelhante, o estudo CIBIS-III (sigla referente ao inglês “*Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study-III*”) randomizou 1010 pacientes com insuficiência cardíaca recém diagnosticada para avaliar o impacto do fármaco de primeira escolha (bisoprolol ou enalapril) na

mortalidade, eventos cardiovasculares e função cardíaca (Willenheimer et al., 2004). Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos em relação à mortalidade e eventos cardiovasculares (Willenheimer et al., 2005), migração de classe funcional (Dobre et al., 2008), estrutura e função cardíaca (van de Ven et al., 2010), mostrando que a escolha de um β -bloqueador como terapia inicial para insuficiência cardíaca é tão segura e eficaz quanto a escolha de um inibidor da ECA.

Ao longo dos anos, uma série de grandes estudos clínicos têm mostrado benefícios dos inibidores da ECA no tratamento da insuficiência cardíaca após o infarto do miocárdio. A redução significativa da morbi-mortalidade por insuficiência cardíaca garantida pelos inibidores da ECA em pacientes infartados tornou essa classe farmacológica terapia de primeira escolha em todos os consensos para tratamento do infarto agudo do miocárdio e da insuficiência cardíaca crônica (Antman et al., 2004; Dickstein et al., 2008; Piegas et al., 2009). Por outro lado, grandes estudos clínicos têm evidenciado nos últimos anos os benefícios do uso de β -bloqueadores no tratamento de pacientes com insuficiência cardíaca após o infarto. Diante disto, as atuais diretrizes brasileiras para o tratamento da insuficiência cardíaca crônica já recomendam os β -bloqueadores como terapia de primeira escolha para a insuficiência cardíaca recém diagnosticada (Bocchi et al., 2009). Porém, apesar dos benefícios esperados pelo tratamento com essa classe farmacológica, como o bloqueio da atividade simpática excessiva e da redução do consumo energético miocárdico, alguns desfechos observados não são explicados somente por esses efeitos. Vários estudos experimentais em modelos de insuficiência cardíaca mostram efeitos antioxidantes, antiapoptóticos, vasodilatadores e antiproliferativos (Keating & Jarvis, 2003).

Dentro do modelo neurohumoral da insuficiência cardíaca após o infarto, a ativação simpática precede a ativação do sistema renina-angiotensina (Francis et al., 1990), fato que justificaria o uso de β -bloqueadores precocemente. Por outro lado, alguns estudos mostram que o tratamento com inibidores da ECA após o infarto reduz os níveis circulantes de catecolaminas e reduz a atividade simpática em longo prazo, mostrando que a inibição do sistema renina-angiotensina pode reduzir a ativação do sistema nervoso simpático, mesmo que a longo prazo justificando o seu uso como primeira escolha. Porém, alguns relatos de pequenos estudos clínicos tem sugerido

que os β -bloqueadores também podem interferir com a ativação do sistema renina-angiotensina. Por exemplo, Holmer et al. (1998) mostrou que pacientes apresentando aumento dos níveis plasmáticos de renina e angiotensina I após receber um inibidor da ECA, a adição de um β -bloqueador reduziu os níveis plasmáticos desses fatores. Resultados semelhantes foram observados por Teisman et al. (2000) em pacientes com insuficiência cardíaca severa (classe funcional III e IV). Foi observada redução dos níveis plasmáticos de renina, aldosterona e endotelina nos pacientes que receberam um β -bloqueador. Esse efeito sobre a redução de renina plasmática foi evidenciado também por Holmer et al. (2001) em pacientes com insuficiência cardíaca após a adição de um β -bloqueador à terapia padrão. Importante ressaltar que este efeito dos β -bloqueadores sobre a redução da renina plasmática foi evidenciado apenas quatro semanas após a introdução do fármaco ao paciente, mostrando ser um efeito rápido (Fung et al., 2003), e podendo pelo menos em parte, justificar os efeitos benéficos associados ao tratamento com β -bloqueadores, além dos esperados pelo bloqueio adrenérgico.

Apesar destes estudos, a maioria deles feito dentro de um contexto clínico, os efeitos do tratamento com β -bloqueador sobre a ativação do sistema renina-angiotensina locais, particularmente no coração, ainda não foram avaliados. Tendo em vista que a ativação adrenérgica ativa o sistema renina-angiotensina circulante e alguns sistemas locais (no coração, por exemplo), nossa hipótese é que o carvedilol administrado após o infarto reduziria a ativação do sistema renina-angiotensina cardíaco, contribuindo para os efeitos benéficos no coração, incluindo uma atenuação do remodelamento ventricular e prevenindo o desenvolvimento de insuficiência cardíaca em ratos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos agudos e crônicos do tratamento com carvedilol sobre os parâmetros moleculares, estruturais e funcionais após o infarto do miocárdio em ratos.

2.2. Objetivos Específicos

Estudar em ratos infartados, os efeitos do carvedilol sobre:

- i. Os parâmetros hemodinâmicos;
- ii. A dilatação ventricular;
- iii. A ativação do sistema renina-angiotensina plasmático e tecidual;
- iv. A hipertrofia e fibrose no miocárdio remanescente;
- v. A sobrevida.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Animais de Experimentação

Foram utilizados ratos Wistar, com idade entre 8 e 9 semanas, com peso inicial entre 240-260 gramas. Os animais foram obtidos no biotério do Centro de Ciências da Saúde e acomodados em gaiolas apropriadas para animais de pequeno porte, com no máximo 5 animais por gaiola, tendo livre acesso a água e ração padrão para roedores. Os animais ficaram acomodados em uma sala com temperatura entre 20 e 23 °C durante todo o período de acompanhamento.

3.2. Indução do Infarto do Miocárdio

O infarto do miocárdio foi obtido pela oclusão permanente da artéria coronária descendente anterior esquerda, seguindo a técnica padrão amplamente descrita na literatura (Johns & Olson, 1954; Pfeffer et al., 1979; Mill et al., 1990; Baldo et al., 2008).

De forma sucinta, o animal era pesado e anestesiado com uma mistura contendo quetamina (50 mg/kg, AGENER, BRASIL) e xilazina (10 mg/kg, BAYER, BRASIL) injetado por via intraperitoneal. Alcançado o plano anestésico desejável, o animal teve seus membros fixados a uma mesa cirúrgica, em posição supina. Com uma pequena depilação no lado esquerdo do tórax e adequada assepsia do local, foi realizada uma incisão na pele do animal para exposição e dissecação dos músculos intercostais. Uma sutura em forma de bolsa foi preparada previamente para garantir o rápido fechamento da incisão cirúrgica após a ligadura coronariana.

Após estes procedimentos iniciais, uma incisão lateral no nível do quarto espaço intercostal foi realizada para exposição do coração. Com fio de nylon monofilamento

6.0, a artéria coronária descendente anterior esquerda foi permanentemente ocluída, o coração reposicionado no tórax e a sutura fechada. Um grupo de animais foi submetido ao procedimento de cirurgia fictícia, que consistiu na aplicação de todos os passos descritos anteriormente, exceto a oclusão da artéria coronária descendente anterior esquerda, sendo estes alocados ao grupo controle (SHAM). Após o procedimento cirúrgico, os ratos foram acomodados em gaiolas com livre acesso a água e ração para recuperação da anestesia.

3.3. Grupos Experimentais e Esquemas Terapêuticos

A Figura 8 representa os esquemas terapêuticos utilizados neste trabalho.

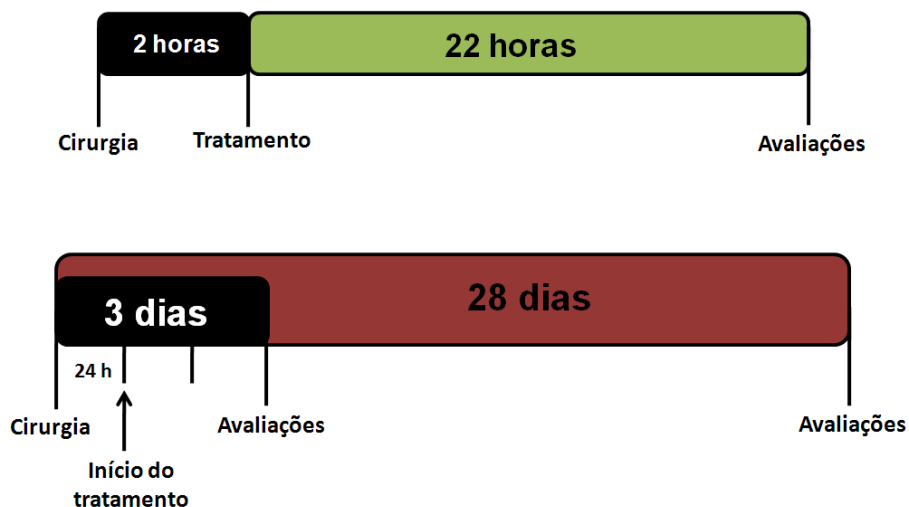


Figura 8. Esquemas terapêuticos utilizados no estudo. A. Avaliação dos efeitos agudos do tratamento com carvedilol. B. Avaliação a longo prazo do tratamento com carvedilol após o infarto.

No primeiro protocolo, duas horas após o infarto os animais foram alocados a dois grupos:

- i. **IM-PLAC:** corresponde ao grupo de animais que recebeu tratamento com veículo (metilcelulose, 0,5%) por gavagem (volume entre 0,2 e 0,3 ml);
- ii. **IM-CARV:** corresponde ao grupo de animais que recebeu tratamento com carvedilol, na dose de 20 mg/kg, diluído em solução de metilcelulose 0,5% e administrado por gavagem (volume entre 0,2 e 0,3 ml).

Vinte e quatro horas após a cirurgia, os animais foram sacrificados para avaliação da área do infarto e dos parâmetros ponderais. Além disto, a mortalidade após o infarto foi avaliada.

Em um segundo protocolo experimental, os animais foram divididos em dois grupos experimentais vinte e quatro horas após a ligadura coronariana:

- i. **IM-PLAC:** corresponde ao grupo que recebeu diariamente tratamento com veículo (metilcelulose, 0,5%) por gavagem (volume entre 0,2 e 0,3 ml);
- ii. **IM-CARV:** corresponde ao grupo que recebeu diariamente tratamento com carvedilol, na dose de 20 mg/kg, diluído em solução de metilcelulose (0,5%) e administrado por gavagem (volume entre 0,2 e 0,3 ml).

Os animais submetidos à cirurgia fictícia (grupo SHAM) não receberam nenhum tipo de tratamento. Neste segundo protocolo os animais foram avaliados três ou vinte e oito dias após a cirurgia.

3.4. Avaliações de Consumo Alimentar

No terceiro dia e no vigésimo oitavo dia após o infarto, uma sub-amostra de cada grupo foi selecionada para avaliações do consumo de água e ração, e do volume urinário durante vinte e quatro horas. Para isso, os animais foram colocados em gaiolas metabólicas individuais (TECNIPLAST, ITALIA) por vinte e quatro horas. Em anexo (ANEXO I) estão apresentados os resultados de um experimento piloto mostrando a reprodutibilidade das variáveis medidas no primeiro e no segundo dia na gaiola metabólica. Tendo como visto a boa reprodutibilidade dos parâmetros avaliados, as avaliações metabólicas foram sempre realizadas mantendo os animais por 24 horas na gaiola metabólica.

No vigésimo sétimo dia, os animais foram colocados novamente na gaiola metabólica por dois dias, sendo a coleta realizada durante o segundo dia. A ração foi pesada em balança com precisão de 0,1 gramas. A água e a urina foram medidas em proveta com precisão de 0,5 ml. De posse da quantidade de ração consumida, foi calculada a quantidade de sódio ingerida levando em consideração a informação sobre o teor de sódio presente na ração (0,28% de sódio) disponibilizada pelo fabricante (Ração Labina[®], PURINA).

3.5. Teste de Tolerância Máxima ao Exercício Aeróbico

O teste de tolerância máxima ao exercício foi realizado para avaliação da resistência aeróbica dos animais 28 dias após o procedimento cirúrgico. Os animais usados para esse protocolo não foram utilizados em nenhuma outra análise para excluir a influencia de qualquer efeito do exercício em outros parâmetros. Portanto, ao final do protocolo os animais foram sacrificados.

O protocolo de teste realizado foi modificado do trabalho previamente publicado por Koh et al. (2003), visando melhor adaptação do animal ao exercício. Três semanas

após o procedimento cirúrgico, os animais iniciaram o procedimento para adaptação à esteira. Essa adaptação consistiu em caminhada em esteira apropriada para roedores (INSIGHT ET2000, Brasil), em velocidade fixa de 10 metros por minuto, durante 10 minutos por dia, por um período de 5 dias. Após este período de adaptação, os animais foram submetidos ao teste de tolerância máxima ao exercício que consistia em uma velocidade inicial de 10 metros por minuto por 2 minutos, sendo progressivamente acrescidos 2 metros por minuto à velocidade da esteira a cada 2 minutos, até a completa exaustão do animal. A exaustão foi definida no momento em que o animal não conseguia sustentar a corrida.

3.6. Avaliações Hemodinâmicas

Três ou 28 dias após o procedimento cirúrgico, os animais foram anestesiados com mistura de quetamina (70 mg/kg, AGENER, BRASIL) e xilazina (10 mg/kg, BAYER, BRASIL) por via intraperitoneal. Atingindo o ponto cirúrgico, os animais foram fixados em uma mesa cirúrgica na posição supina para o procedimento de cateterismo ventricular esquerdo como descrito anteriormente (Mill et al., 2003; Resende et al., 2006; Resende et al., 2007).

Foi realizada uma depilação na altura do pescoço e uma pequena incisão foi realizada na pele. Após localização e dissecação da artéria carótida direita, um cateter de polietileno (PE 50) preenchido com salina e heparina foi inserido através do lúmen do vaso até a aorta, sendo posteriormente avançado até o ventrículo esquerdo. Um transdutor de pressão (TRI 21, Letica Scientific Instruments, Espanha) conectado a extremidade livre do cateter transformava o estímulo mecânico em estímulo elétrico. O estímulo era amplificado (Powerlab/4SP ML750, ADInstrument, Australia) e transmitido a um computador para processamento digital do registro de pressão.

A frequência cardíaca (FC) foi obtida através do número de pulsos arteriais por minuto, além da pressão arterial sistólica (PAS) e diastólica (PAD). No ventrículo

esquerdo, foram obtidas as pressões sistólica (PSVE) e diastólica final (PDFVE), além da derivada máxima de contração e relaxamento ($dP/dt +$ e $dP/dt -$, respectivamente). A Figura 9 mostra uma curva típica de pressão ventricular esquerda, indicando os pontos de obtenção de cada parâmetro.

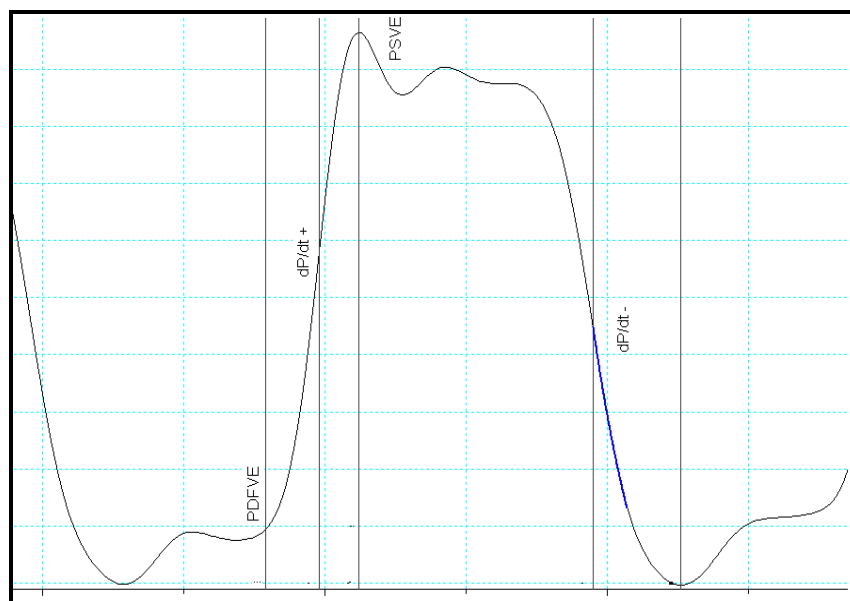


Figura 9. Figura representativa de uma onda de pressão intraventricular, delimitando os pontos de onde foram obtidas as variáveis.

3.7. Análise *in situ* da Dilatação do Ventrículo Esquerdo: Relação Pressão-Volume

As curvas de relação pressão-volume foram obtidas seguindo a técnica descrita previamente (Fletcher et al., 1981; Pfeffer et al., 1985; Teerlink et al., 1994; Moro et al., 2007; Gourine et al., 2008; Yamazaki et al., 2010; Baldo et al., 2011). Depois de realizados os registros hemodinâmicos, o coração foi parado em diástole com injeção de 0,4 ml de cloreto de potássio 3M *in bolus* pela artéria carótida. Rapidamente, uma incisão foi realizada na artéria aorta e uma cânula de dupla-luz

(uma cânula PE 50 inserida em outra cânula PE 200) inserida por aproximadamente 6 mm dentro do ventrículo esquerdo. A infusão de volume era realizada através da PE 200 simultaneamente com o registro da pressão intraventricular feito através da PE 50. Com uma linha, o sulco átrio-ventricular foi amarrado para evitar a comunicação entre as duas câmaras. Além disto, uma pequena incisão na parede externa do ventrículo direito foi realizada para impedir algum efeito compressivo sobre o septo interventricular. O coração foi esvaziado manualmente gerando uma pressão intraventricular de cerca de -5 mmHg. Solução salina (NaCl 0,9%) foi infundida com o auxílio de uma bomba de infusão (BI 2000, INSIGHT EQUIPAMENTOS, BRASIL), usando uma taxa de infusão fixa em 0,68 ml por minuto. A Figura 9 ilustra esquematicamente a preparação para a realização da curva pressão-volume.

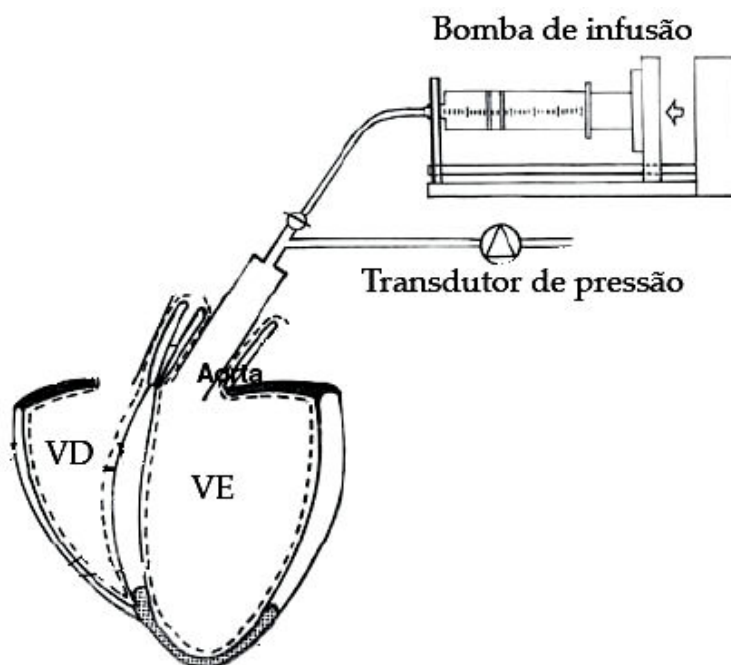


Figura 9. Figura representativa da preparação para a obtenção da curva pressão-volume. Adaptado de Jugdutt et al., (2007).

Duas curvas foram registradas para cada rato dentro de um período de no máximo 10 minutos para excluir a influência do rigor *mortis*. As análises foram realizadas utilizando a média aritmética das mesmas, avaliando o volume infundido para

valores fixos de pressão (0; 1; 2; 3; 4; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5; 20; 22,5; 25; 27,5; 30 mmHg). Foi adotado o volume 0,05mL para o valor de 0 mmHg.

A análise da curva pressão-volume obtida foi realizada como descrito previamente (Baldo et al., 2011). A curva foi dividida em dois segmentos. Um primeiro, compreendendo valores de 0 a 5 mmHg, foi ajustada para uma regressão linear ($y=a + bx$, onde b representa o coeficiente angular da reta). Esse primeiro segmento, caracterizado pelo enchimento passivo da câmara ventricular, indica a dilatação da câmara ventricular e é obtido através do cálculo da inclinação da reta de regressão. Quando a inclinação da reta de regressão aumenta, menor será o volume ventricular para um valor fixo de pressão. Isso indica que quanto maior for a dilatação, menor será o valor referente.

O segundo segmento da curva, obtida com os volumes intraventriculares para pressões de 5 a 30 mmHg, foi ajustado para um modelo monoexponencial. Para a análise desse segmento da curva, foi utilizada uma transformação logarítmica na escala de pressão, transformando a curva pressão-volume entre 5-30 mmHg que inicialmente se ajustou a uma função exponencial, em uma função linear, de onde foi obtida a constante de rigidez da câmara ventricular através do coeficiente angular, semelhante ao procedimento feito para o primeiro segmento. Isto permite comparar as respostas do segundo segmento, sem sofrer influência de possíveis diferenças existentes entre 0-5 mmHg.

Após os experimentos, os corações utilizados na análise descrita acima foram pesados e armazenados em uma solução tamponada de formol (10%, pH 7,4) para análises histológicas. Além disto, o pulmão e o rim foram pesados. Para calcular o percentual de água no pulmão, estes foram colocados em estufa a 96 °C por 48 horas.

3.8. Análises Histológicas

Após os experimentos descritos na seção anterior, os corações fixados em formol foram divididos em três fatias transversais. As fatias passaram por processo de desidratação em banho de álcool, diafanização em banhos de xilol e inclusão em bloco com banhos de parafina. Foram feitos cortes transversais de cada fatia com espessura de 6 μm e montados em lâminas de vidro, sendo coradas com picrosirius (Picrosirius Red, F3BA, FLUKA, EUA) ou hematoxilina e eosina (Vetec, Brasil) para as análises específicas descritas a seguir.

3.8.1. Análise do colágeno

A área ocupada por colágeno foi avaliada na região do septo interventricular. As imagens foram feitas por uma câmera fotográfica (Sony, Japão) acoplada a um microscópio ótico (BEL Engineering, Top Light B2, Itália) sob aumento de 400 vezes. As imagens foram obtidas em cortes histológicos (6 a 8) de cada fatia do coração. Seis áreas de cada corte foram fotografadas.

Utilizando o software específico (Image J, v. 1.43u, National Institute of Health, EUA) adequadamente calibrado, foi quantificado o valor percentual da área ocupada pelo colágeno em cada imagem (Sugano et al., 2005). Como o colágeno foi corado em vermelho, utilizou-se uma escala de cor para retirar as demais tonalidades, obtendo-se assim o percentual de área ocupada por colágeno (Figura 10). O valor final para cada animal foi a média de todas as imagens obtidas.

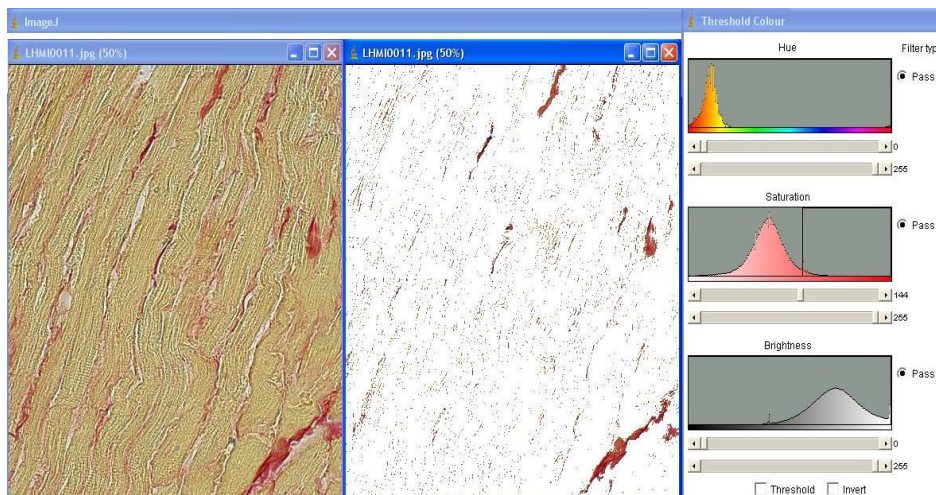


Figura 10. Avaliação da área ocupada por colágeno realizada com o programa ImageJ.

3.8.2. Análise da Hipertrofia

A avaliação da hipertrofia cardíaca foi realizada de acordo com a técnica descrita previamente (Lee et al., 2007; Tan et al., 2010; Ocaranza et al., 2010).

Para excluir diferenças no tamanho dos cardiomiócitos nas diferentes áreas do miocárdio, as lâminas coradas com hematoxilina e eosina obtidas da parte média do ventrículo esquerdo foram utilizadas para a análise da área de secção transversa do miócito. As imagens foram capturadas com câmera fotográfica (Sony; Japão) acoplada a um microscópio ótico (BEL Engineering, Top Light B2, Itália) sob aumento de 400 vezes. A área de secção transversal do miócito foi medida contornando cuidadosamente o miócito que estivesse posicionado perpendicularmente ao plano da secção, com núcleo visível e com a membrana íntegra (Figura 11). Um total de 40 a 50 células foram avaliadas na área remanescente ao infarto (septo interventricular no grupo SHAM), excluindo a zona de borda. As medidas foram feitas utilizando o programa de imagens ImageJ (v. 1.43u, National Institute of Health, EUA).

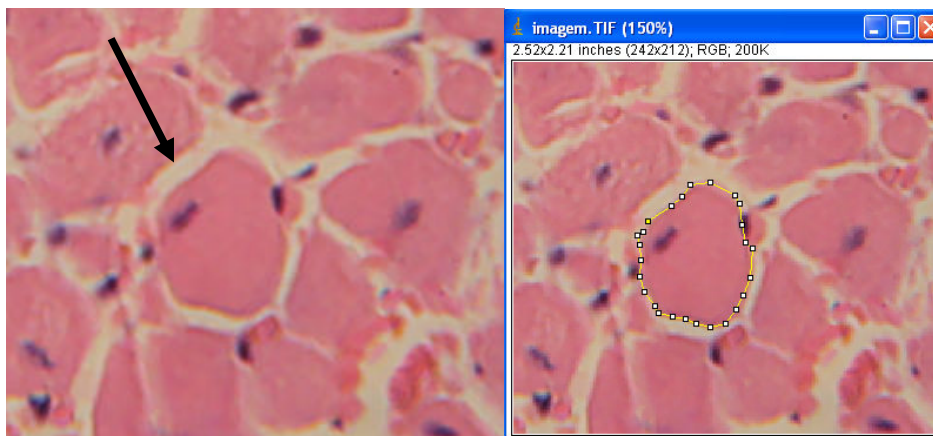


Figura 11. Avaliação da área da secção transversal do miócito com o programa ImageJ.

3.9. Análise da Área e Extensão do Infarto

Para as análises da extensão do infarto, foram utilizadas diferentes técnicas de acordo com o protocolo avaliado.

3.9.1. Técnica do Trifeniltetrazólio

Para a avaliação da área do infarto 24 horas e 3 dias após o infarto, foi utilizada a técnica de coloração vital com o trifeniltetrazólio (Vivaldi et al., 1985). O coração foi retirado do animal e os átrios removidos. Os ventrículos foram lavados em solução nutritora e congelados. Ainda congelado, o ventrículo foi dividido em quatro cortes transversais. Os cortes foram incubados por sete minutos em uma solução de cloreto de trifeniltetrazólio a 1% (pH 7,4) em banho-maria a 37° C. Após este procedimento, imagens dos cortes foram obtidas em Scanner (Scanjet 2400, Hewlett-Packard Inc., EUA) e posteriormente analisadas com o auxílio do programa ImageJ (v. 1.43u, National Institute of Health, EUA). Os resultados foram apresentados como o percentual da área do ventrículo esquerdo ocupado pelo infarto.

3.9.2. Técnica Histológica

Utilizando os cortes transversais feitos do ventrículo esquerdo corados com Picrosirius, a medida da extensão do infarto foi realizada por planimetria digital, semelhante a descrições prévias (Sartório et al., 2007; Fracarollo et al., 2008).

O perímetro epicárdico do ventrículo esquerdo era manualmente delimitado com o auxílio do programa de análise de imagens ImageJ (v. 1.43u, National Institute of Health, EUA). Posteriormente, o perímetro epicárdico correspondente à área infartada (delimitada pela coloração com Picrosirius) era delimitada. Todo procedimento era realizado também para o endocárdio. A extensão do infarto foi apresentada como o valor percentual médio do perímetro infartado do ventrículo esquerdo.

3.10. Coleta e Processamento de Tecidos para Biologia Molecular

Para a coleta de tecido para biologia molecular, uma amostra de cada grupo (n=7) foi sacrificada por sobredosagem de anestésico (tiopental) aos 3 e 28 dias após a produção do infarto ou cirurgia fictícia. O sangue foi coletado por punção cardíaca direta em tubo contendo EDTA. O coração foi rapidamente removido e o ventrículo esquerdo era separado e armazenado em tubos criorresistentes. As amostras foram coletadas com inibidores de proteases (*Protease Inhibitor Cocktail*, SIGMA, P-2714, EUA), exceto para as amostras referentes à atividade da ECA. Depois da coleta, os órgãos foram colocados em tubos com identificação apropriada e armazenados a -80°C.

A extração protéica foi feita após homogeneização das amostras, em temperatura de 4°C, com solução tampão (Tris-HCl 50 mM, NaCl 0,9 M, pH 7,4). O homogenato foi centrifugado (Eppendorf-Neitheir-Hinz, Gmb 22331, Alemanha) a 11000 rpm durante 20 minutos, a 4°C, para recolher o sobrenadante. Em seguida, foi realizada a

quantificação protéica pelo método descrito por Bradford (1976) em espectrofotômetro (Fotômetro Bioquímica, Bio 2000, Brasil).

3.11. Avaliação da Expressão Protéica (Western Blot)

Às alíquotas do homogenato (correspondente a 80 µg de proteína) foram adicionados 15 µl da solução de Laemmli (Uréia 0,5 mM; SDS 0,17 mM; DTT 39 µM; Tris-HCl 0,01 M pH 8,0 e Azul de bromofenol 0,5 %). Depois de realizar a centrifugação (6000 rpm, por 2 minutos), as alíquotas foram mantidas à temperatura de 95°C durante 4 minutos.

As amostras foram aplicadas em gel SDS-poliacrilamida 7,5% (acrilamida 40%, Tris HCl 1,5M pH 8,8, SDS 10%, persulfato amônico APS 10%), previamente imersos em cuba contendo tampão (Tris-HCl 25mM, Glicina 190 mM, SDS 0,1 %), e submetidas à eletroforese por 3 horas a 80 V (PowerPacTM HC, BioRad, Singapura), em banho de gelo. Após a separação das proteínas no gel, estas foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose (Amersham, GE Healthcare, UK) banhada por solução tampão de transferência (Tris-HCl 25 mM, Glicina 190 mM, Metanol 20% e SDS 0,1 %) à temperatura ambiente durante 1 hora a 25 V (Trans-Blot SD Cell, Bio-Rad, U.S.A.).

Após a transferência das proteínas, as membranas foram bloqueadas por 2 horas, à temperatura ambiente, com solução de bloqueio (leite desnatado 5%, Tris-HCl 10 mM, NaCl 100 mM, tween 20 à 0,1 %, pH 7,5) sob constante agitação mecânica. Em seguida, sob agitação constante, as membranas foram incubadas com os anticorpos primários para AT₁ (anticorpo monoclonal de coelho anti-AT₁, na diluição de 1:500, SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY INC) ou para AT₂ (anticorpo monoclonal de coelho anti-AT₂, na diluição de 1:500, SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY INC), diluídos em solução de albumina à 5% com tampão TBS-T (Tris-HCl 10 mM, NaCl 100 mM, Tween 20 0,1 %, pH 7,5).

As membranas foram incubadas durante 12 horas a 4°C sob agitação mecânica. Em seguida, as membranas foram submetidas a seis incubações com TBS-T, cada uma com duração de 5 minutos. Posteriormente, as membranas foram incubadas com anticorpo secundário (IgG anti-coelho na diluição de 1:5000, Santa Cruz Biotechnology INC.) durante 60 minutos.

As membranas foram novamente lavadas por 30 minutos com troca da solução de TBS-T a cada 5 minutos, e por mais 30 minutos com troca da solução TBS-T sem a presença do tween-20 a cada 10 minutos. A detecção das bandas foi realizada através da utilização de substância quimioluminescente (ECL Plus, AmershamTM, GE Healthcare, UK), em contato com filme fotossensível (Hyperfilm, AmershamTM, UK). A quantificação das bandas foi realizada com o programa ImageJ (v. 1.43u, National Institute of Health, EUA), após digitalização dos filmes com auxílio do Scanner (Scanjet 2400, Hewlett-Packard Inc., EUA).

Para corrigir a expressão dos receptores AT₁ e AT₂, foi utilizada a expressão do GAPDH (anticorpo monoclonal de rato anti-GAPDH, na diluição de 1:5000, Abcam Cambridge MA, USA). As membranas foram submetidas a duas incubações com solução tampão de “*stripping*” (GLICINA 200 mM, SDS 0,1% e TWEEN 1%, pH 2,2), cada uma com duração de 10 minutos. Em seguida, outras duas incubações foram realizadas na presença de PBS (Na₂HPO₄ 150 mM, Na₂HPO₄ 18 mM, NaCl 100mM, pH 7,4), sendo este processo finalizado com mais duas lavagens na presença da solução de TBS-T.

Após efetuar o *stripping*, as membranas foram bloqueadas por 2 horas e depois incubadas com o anticorpo contra o GAPDH (na diluição de 1:5000), sob constante agitação mecânica. Os etapas seguintes são similares ao descrito anteriormente, exceto pelo anticorpo secundário utilizado (IgG anti-mouse, na diluição de 1:5000, Stressgen).

3.12. Avaliação da Atividade Plasmática e Tecidual da Enzima Conversora de Angiotensina

A dosagem da atividade plasmática e tecidual da ECA foi realizada em acordo com trabalhos previamente publicados (Santos et al., 1985). As amostras de soro (3 μ L) e de ventrículo esquerdo (80 μ g de proteína), em triplicata, foram incubadas por 15 minutos a uma temperatura de 37 °C com 40 μ L de solução tampão contendo substrato para ECA, Hip-His-Leu 5 mM (Hipuril-Histidil-Leucina, Sigma Aldrich), dissolvidos em solução tampão de borato de sódio 0,4 M e NaCl 0,9 M, pH 8,3. Após o período de incubação, a reação foi interrompida pela adição de 190 μ L de NaOH 0,34 M. O produto gerado, His-Leu, foi mensurado fluorimetricamente (Synergy 2, Biotek, U.S.A.) precedido por uma incubação por dez minutos com 17 μ L de o-phataldialdehyde (OPA-Sigma Aldrich) 2% dissolvidos em metanol (Sigma Aldrich). As medidas de fluorescência foram realizadas a 37°C em placa ótica contendo com 96 poços (Black polystyrene, Corning, U.S.A.), tendo filtros de excitação a 365 nm e de emissão a 495 nm. A placa utilizada para leitura fluorescente foi controlada pelo software Gen5. Uma curva de calibração (3,9 a 125 nM/50 μ L) com substrato formado da ECA (His-Leu), foi incluída em cada placa. Os resultados foram expressos como nMol/ml/min para a atividade plasmática e nMol/mg proteína/min para a atividade tecidual.

3.13. Análise Estatística

Todos os dados descritos no texto, figuras e tabelas foram apresentados como a média \pm erro padrão da média (EPM). Para verificar a adequação dos dados à distribuição Gaussiana, foi realizado o teste de Kolmogorov-Smirnov. O coeficiente de variação foi usado para representar a variabilidade da área do infarto. Comparações entre duas médias independentes foram realizadas usando o teste *t* de Student para amostras independentes. Comparações entre três médias independentes foram feitas utilizando a análise de variância (ANOVA) de um fator. Quando um segundo fator foi introduzido às análises, a ANOVA de dois fatores foi utilizada. Quando a ANOVA foi significativa, foi realizado o teste de Tukey para comparações múltiplas. O teste exato de Fischer foi utilizado para comparar proporções. A curva de mortalidade foi construída seguindo o modelo de Kaplan-Meier, e as diferenças entre as curvas foram analisadas através do teste log rank. Análise de correlação de Pearson foi utilizada para avaliar associação entre duas variáveis. As diferenças foram consideradas significativas quando $P < 0,05$.

As análises estatísticas foram conduzidas utilizando o software SPSS (v. 13, SPSS Inc., Chicago, IL, EUA), e a construção das figuras foi realizada com o auxílio do software OriginPro (v. 7.5, OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA).

4. RESULTADOS

Para melhor apresentação dos resultados e facilitar o entendimento dos mesmos, os resultados serão separados em relação ao tempo em que as análises foram realizadas (ver Materiais e Métodos).

4.1. Efeitos Agudos do Carvedilol

4.1.1. Características Ponderais

Um total de 58 animais foram utilizados para este primeiro protocolo. Dezesesseis animais foram alocados ao grupo SHAM, 23 ao grupo IM-PLAC, e 19 ao grupo IM-CARV.

O peso corporal no início do protocolo foi semelhante entre os três grupos analisados (SHAM: 249 ± 4 , IM-PLAC: 250 ± 4 , IM-CARV: 248 ± 4 g; $P > 0,05$). Porém, vinte e quatro horas após a cirurgia, foi observada perda significativa do peso corporal nos animais submetidos ao infarto quando comparados ao grupo SHAM, não havendo diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos infartados (SHAM: 246 ± 4 , IM-PLAC: 236 ± 4 , IM-CARV: 238 ± 4 g; $P < 0,05$).

O peso dos ventrículos foi significativamente maior nos grupos infartados em relação ao grupo SHAM, não sendo detectada diferença associada ao tratamento com carvedilol. As variáveis ponderais estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros morfométricos avaliados vinte e quatro horas após a cirurgia

	SHAM	IM-PLAC	IM-CARV
	(n=8)	(n=9)	(n=9)
PC (g)	246 ± 4	236 ± 4	238 ± 4
Ventrículos (mg)	0,717 ± 0,01	0,775 ± 0,01*	0,769 ± 0,01*
Ventrículos/PC (mg/g)	2,75 ± 0,06	3,20 ± 0,05*	3,10 ± 0,06*
Pulmão (g)	1,346 ± 0,03	1,556 ± 0,06*	1,502 ± 0,05
Pulmão/PC (mg/g)	5,17 ± 0,15	6,46 ± 0,35*	6,05 ± 0,23*
% Água no Pulmão	80,17 ± 0,25	80,53 ± 0,35	80,80 ± 0,25
Fígado (g)	11,10 ± 0,41	9,63 ± 0,30*	9,93 ± 0,29*
Fígado/PC (mg/g)	42,53 ± 1,37	39,59 ± 0,92	39,95 ± 1,16
% Água no Fígado	70,45 ± 0,25	70,33 ± 0,25	71,21 ± 0,33
Rim (g)	0,993 ± 0,01	0,905 ± 0,02	0,944 ± 0,02
Rim/PC (mg/g)	3,814 ± 0,07	3,722 ± 0,05	3,805 ± 0,11

PC, peso corporal. * $P < 0,05$ vs SHAM

4.1.2. Avaliação da Área do Infarto

Vinte e quatro horas após a indução do infarto, a coloração com o TTC permite avaliar a área afetada pela isquemia. A parte superior da Figura 12 ilustra cortes representativos do coração infartado corados com TTC. Como observado na Figura 12, não houve diferença significativa na área ocupada pelo infarto entre os dois grupos avaliados (IM-PLAC: $52,4 \pm 2,1$ e IM-CARV: $54,9 \pm 2,9$ %; $P > 0,05$).

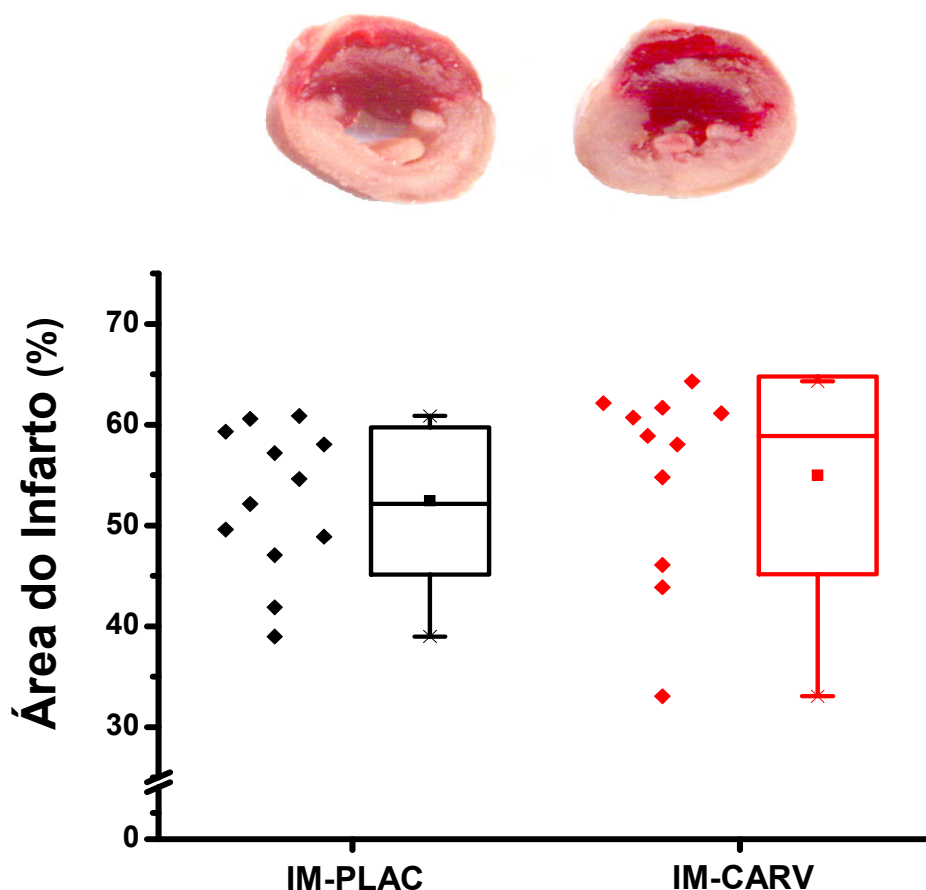


Figura 12. Box-plot mostrando a área do infarto vinte e quatro horas após a ligadura coronariana. À esquerda, os animais estão representados individualmente para melhor visualização da dispersão dos dados. O *box* representa o desvio padrão, a linha horizontal representa a mediana, o quadrado menor no interior do *box* representa a média, as delimitações superior e inferior representam o percentil 5 e 95 %.

4.1.3. Avaliação da Mortalidade

De acordo com a Figura 13, a mortalidade ao final das primeiras vinte e quatro horas não foi estatisticamente diferente entre os dois grupos infartados apesar apresentar grande tendência a redução no grupo tratado com carvedilol (IM-PLAC: 26,1% e IM-CARV: 5,3%; $P > 0,05$). Neste protocolo, a mortalidade foi avaliada no período compreendido entre duas até vinte e quatro horas após a cirurgia. Nenhum animal do grupo SHAM morreu durante o decorrer do protocolo.

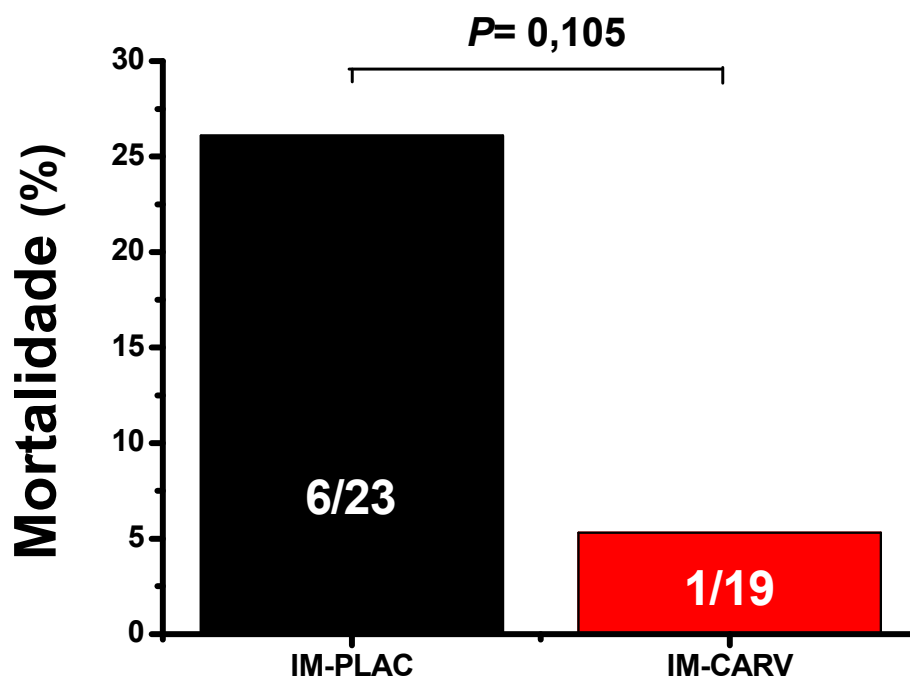


Figura 13. Avaliação da mortalidade dentro das primeiras vinte e quatro horas após o infarto. Os valores no interior das colunas indicam o número de animais mortos/o número total de animais utilizados. O teste exato de Fischer foi usado para comparar as proporções.

4.2. Efeitos Sub-agudos e Crônicos do Carvedilol

4.2.1. Efeitos Sub-agudos do Carvedilol (3 dias)

4.2.1.1. Características Gerais e Parâmetros e Ponderais

A Figura 14 mostra a evolução temporal do peso corporal dos animais após o infarto ou após a cirurgia fictícia. Como podemos observar, três dias após a cirurgia, os grupos infartados apresentam menor peso corporal comparados ao grupo SHAM (SHAM: 259 ± 2 ; IM-PLAC: 232 ± 3 ; IM-CARV: 238 ± 2 ; $P < 0,05$). Essa diferença se manteve significativa durante todo o período de acompanhamento (28 dias), não sendo detectada diferença ao longo do tempo entre os animais infartados.

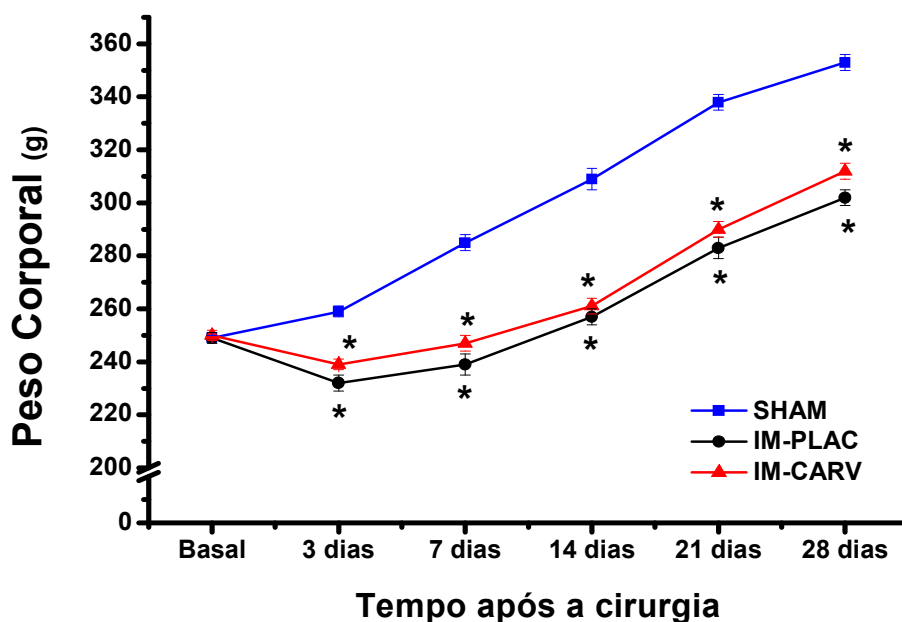


Figura 14. Avaliação temporal do peso corporal após o infarto ou cirurgia fictícia. Valores foram comparados por ANOVA de duas vias, seguida pelo pos hoc de Tukey. * $P < 0,05$ vs SHAM no mesmo tempo.

Os dados referentes à ingestão alimentar 3 dias após a cirurgia estão apresentados na Figura 3. A ingestão de água e ração foi monitorada por 24 horas. O consumo de água pelos animais infartados apresentou tendência à redução ($P=0,2$), mas sem alcançar diferença estatisticamente significativa. Já o consumo de ração foi significativamente menor nos animais infartados, sem diferença associada ao tratamento com carvedilol.

Tabela 3. Ingestão de água e ração e produção de urina três dias após infarto ou cirurgia fictícia (SHAM)

	SHAM (n=9)	IM-PLAC (n=13)	IM-CARV (n=11)
Água (ml)	35,3 ± 2,5	28,3 ± 3	29,4 ± 3,2
Ração (g)	17,8 ± 0,6	12,3 ± 1,2*	13,6 ± 1,6*
Sódio ingerido (mg)	49,8 ± 1,6	34,5 ± 3,4*	38,2 ± 4,5*
Vol. Urinário (ml)	12,8 ± 1,3	14,5 ± 2,1	12,7 ± 1,7

Os parâmetros ponderais dos animais 3 dias após a cirurgia estão apresentados na Tabela 4. Foi observada redução significativa na massa ventricular esquerda nos grupos infartados quando comparados ao grupo SHAM, porém não foram observadas alterações significativas associadas ao tratamento com carvedilol. A relação do peso do ventrículo esquerdo corrigido pelo peso corporal não foi diferente entre os grupos avaliados.

Tabela 4. Parâmetros ponderais avaliados três dias após a cirurgia

	SHAM (n=10)	IM-PLAC (n=11)	IM-CARV (n=11)
VE (g)	0,593 ± 0,02	0,514 ± 0,02*	0,509 ± 0,03*
VE/PC (mg/g)	2,104 ± 0,03	2,156 ± 0,08	2,166 ± 0,08
VD (g)	0,197 ± 0,01	0,208 ± 0,01	0,193 ± 0,01
VD/PC (mg/g)	0,701 ± 0,03	0,882 ± 0,07*	0,829 ± 0,06
Pulmão (g)	1,348 ± 0,03	1,399 ± 0,14	1,397 ± 0,07
Pulmão/PC (mg/g)	4,696 ± 0,13	5,921 ± 0,64*	5,778 ± 0,38*
% Água no Pulmão	81,04 ± 0,17	81,03 ± 0,20	80,88 ± 0,18
Fígado (g)	12,997±0,28	9,950 ± 0,41*	11,276 ± 0,51
Fígado/PC (mg/g)	44,29±0,72	41,14 ± 0,49*	44,37 ± 1,19#
% Água no Fígado	71,27 ± 0,13	71,67 ± 0,19	72,10 ± 0,31
Rim (g)	1,017 ± 0,039	0,983 ± 0,030	0,992 ± 0,033
Rim/PC (mg/g)	3,614 ± 0,079	3,540 ± 0,147	3,616 ± 0,192

VE, ventrículo esquerdo; VD, ventrículo direito; PC, peso corporal. * $P < 0,05$ vs SHAM

4.2.1.2. Parâmetros Hemodinâmicos

Na Tabela 5 estão apresentadas as variáveis hemodinâmicas obtidas através do cateterismo arterial e ventricular três dias após o procedimento cirúrgico. A PDFVE foi significativamente maior no grupo IM-PLAC comparado ao grupo SHAM, parâmetro que foi parcialmente reduzido nos animais tratados com carvedilol. Tanto a $dP/dt+$ quanto a $dP/dt-$ foram significativamente reduzidas após o infarto, porém, sem alterações significantes causadas pelo tratamento com carvedilol.

Tabela 5. Parâmetros hemodinâmicos avaliados três dias após a cirurgia

	SHAM (n=10)	IM-PLAC (n=10)	IM-CARV (n=11)
FC (bpm)	258 ± 9	284 ± 7*	267 ± 10
PAS (mmHg)	116 ± 3	99 ± 2*	105 ± 4*
PAD (mmHg)	84 ± 2	76 ± 2*	79 ± 3
PSVE (mmHg)	123 ± 2	104 ± 3*	112 ± 4*
PDFVE (mmHg)	3,8 ± 0,8	16,1 ± 1,3*	11,6 ± 1,6*#
dP/dt + (mmHg/seg)	6380 ± 126	4363 ± 170*	5027 ± 252*
dP/dt – (mmHg/seg)	-4927 ± 86	-3305 ± 112*	-3540 ± 174*

FC, frequência cardíaca; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; PSVE, pressão sistólica do ventrículo esquerdo; PDFVE, pressão diastólica final do ventrículo esquerdo; dP/dt , derivada máxima de pressão. * $P < 0,05$ vs SHAM, # $P < 0,05$ vs IM-PLAC

4.2.1.3. Atividade da ECA

A atividade da ECA no plasma foi similar nos três grupos avaliados (SHAM: $220,8 \pm 15,3$; IM-PLAC: $215,6 \pm 14,2$; IM-CARV: $213,3 \pm 12,4$ nmol/mL/min; $P > 0,05$). A Figura 15 apresenta o resultado do ensaio para avaliação da atividade da ECA no plasma.

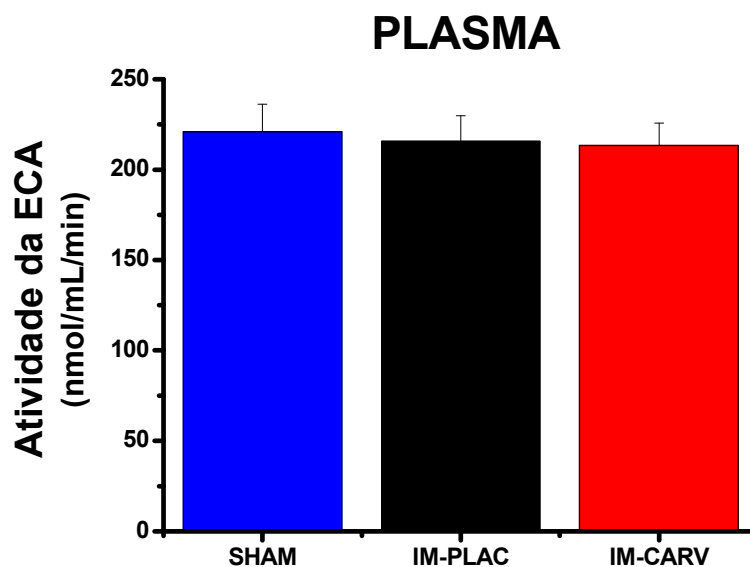


Figura 15. Avaliação da atividade da ECA plasmática três dias após o infarto. Valores foram comparados por ANOVA de uma via.

No terceiro dia após o infarto, a atividade da ECA no ventrículo esquerdo foi significativamente maior no grupo IM-PLAC. Porém, os animais tratados com carvedilol diferiram significativamente dos animais IM-PLAC, apresentando níveis similares aos observados no grupo SHAM (SHAM: $43,5 \pm 2,6$; IM-PLAC: $60 \pm 5,6$; IM-CARV: $45,1 \pm 3,6$ nmol/mg/min; $P < 0,05$) (Figura 16).

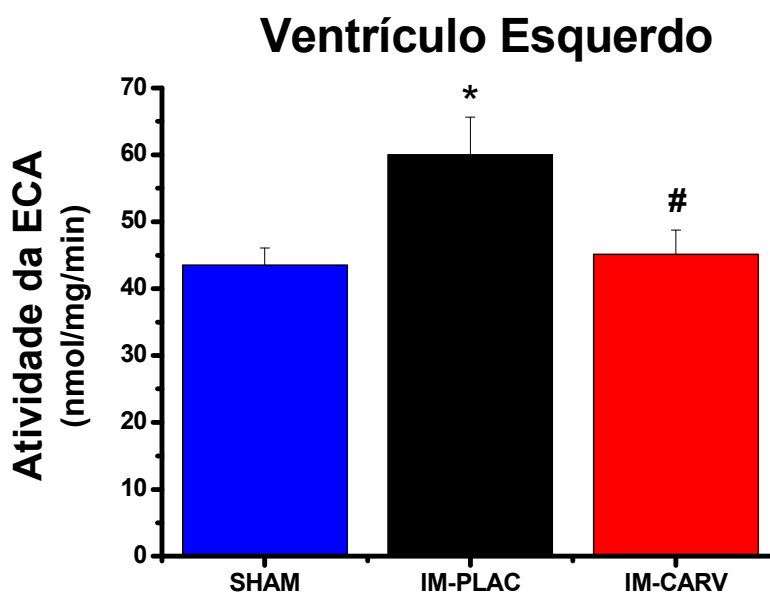


Figura 16. Avaliação da atividade da ECA no ventrículo esquerdo três dias após o infarto. Valores foram comparados por ANOVA de uma via, seguida pelo pos hoc de Tukey. * $P < 0,05$ vs SHAM; # $P < 0,05$ vs IM-PLAC.

4.2.1.4. Expressão Protéica dos Receptores AT₁ e AT₂

A expressão protéica do receptor AT₁ no ventrículo esquerdo de ratos aumentada três dias após o infarto no grupo IM-PLAC comparado ao grupo SHAM e o tratamento com carvedilol impediu esse aumento (SHAM: $0,287 \pm 0,03$; IM-PLAC: $0,431 \pm 0,05$; IM-CARV: $0,312 \pm 0,03$ unidades arbitrárias; $P < 0,05$), sendo similar ao grupo SHAM (Figura 17).

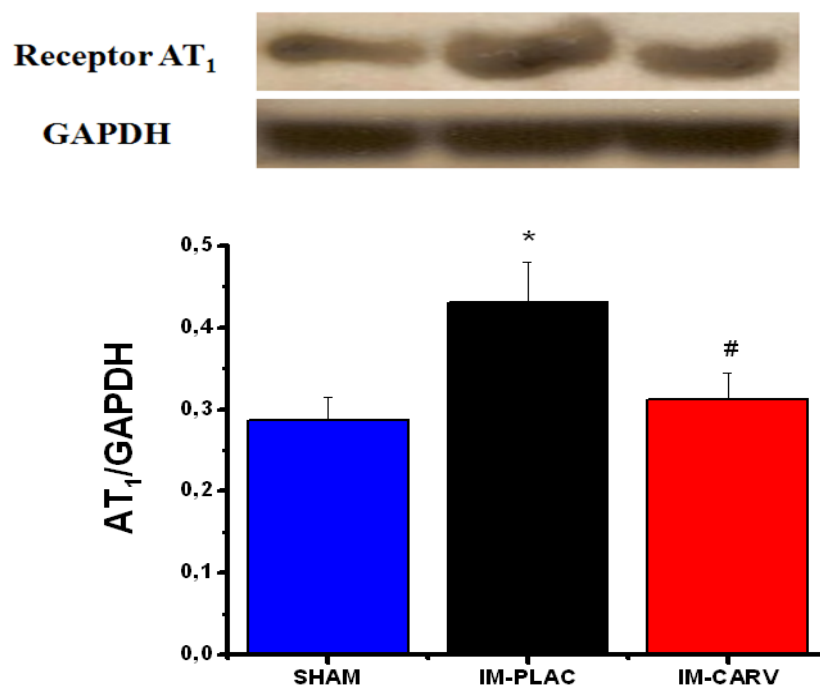


Figura 17. Expressão protéica do receptor AT₁ (43 kDa) para angiotensina II três dias após o infarto. Valores foram comparados por ANOVA de uma via, seguidos pelo pos hoc de Tukey. * $P < 0,05$ vs SHAM; # $P < 0,05$ vs IM-PLAC.

A expressão protéica do receptor AT_2 também foi aumentada após o infarto, porém sem diferença significativa associada ao tratamento entre os grupos infartados (SHAM: $0,138 \pm 0,02$; IM-PLAC: $0,229 \pm 0,02$; IM-CARV: $0,263 \pm 0,03$ unidades arbitrárias; $P < 0,05$) (Figura 18).

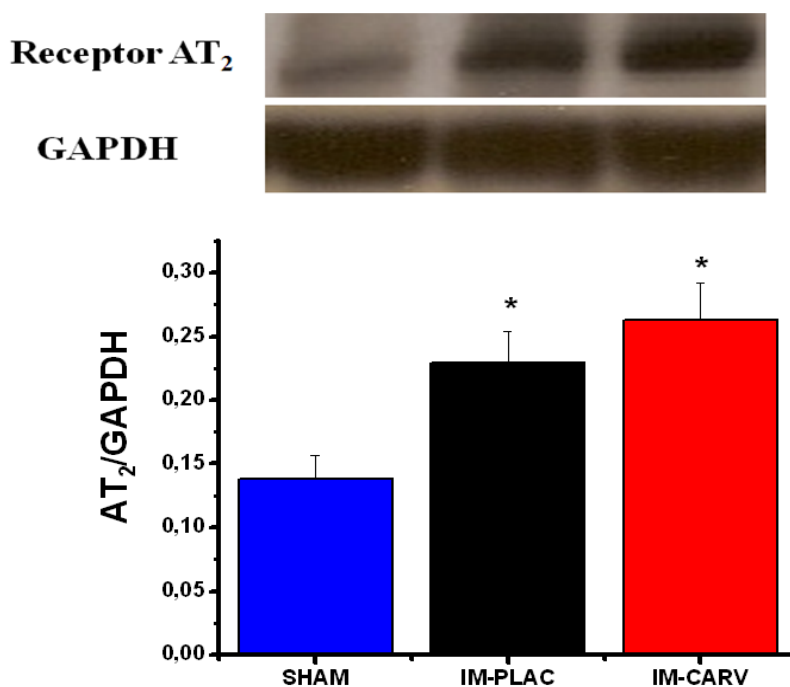


Figura 18. Expressão protéica do receptor AT_2 (44 kDa) para angiotensina II três dias após o infarto. Valores foram comparados por ANOVA de uma via, seguida pelo pos hoc de Tukey. * $P < 0,05$ vs SHAM

4.2.1.5. Avaliação da Área do Infarto

A Figura 19 mostra a dispersão dos valores da área do infarto avaliada pela coloração com TTC. A área do infarto não diferiu significativamente entre os grupos infartados, três dias após a cirurgia (IM-PLAC: $36,3 \pm 1$ vs. IM-CARV: $36,1 \pm 1\%$; $P > 0,05$).

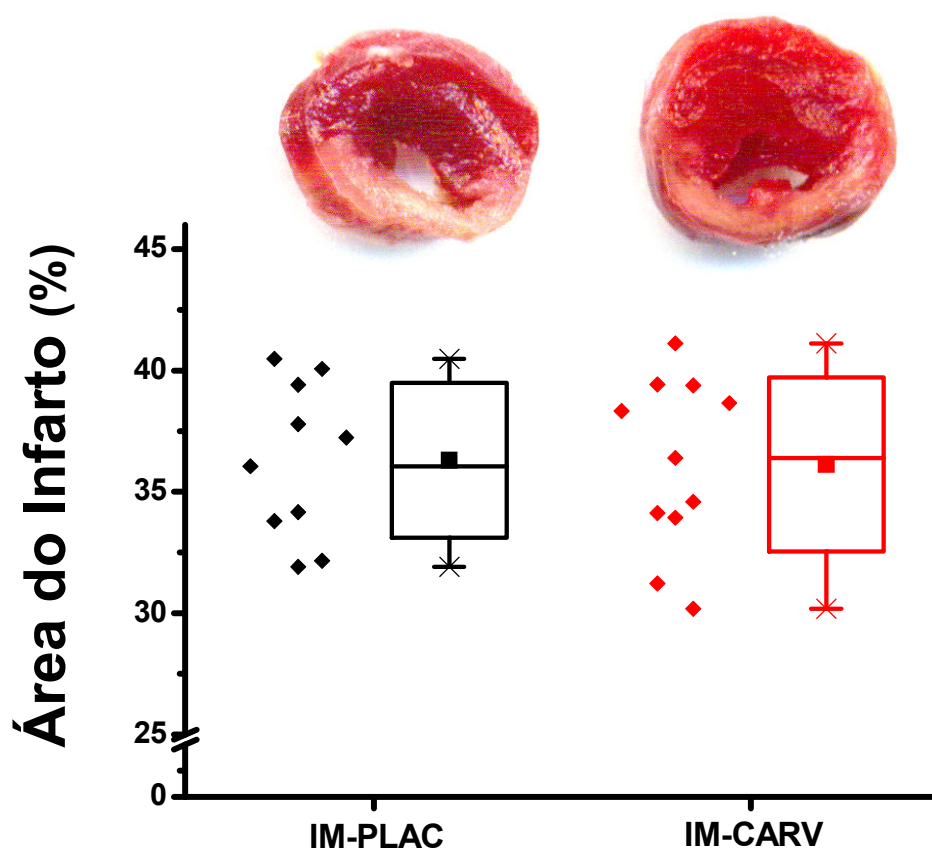


Figura 19. Box-plot mostrando a área do infarto três dias após o infarto. À esquerda, os animais estão representados individualmente para melhor visualização da dispersão das medidas. O *box* representa o desvio padrão, a linha horizontal representa a mediana, o quadrado menor no interior do *box* representa a média, as delimitações superior e inferior representam o percentil 5 e 95 %.

4.2.2. Efeitos Crônicos do Carvedilol

4.2.2.1. Parâmetros Alimentares e Ponderais

O consumo de água foi significativamente menor nos animais tratados com carvedilol comparados aos animais do grupo SHAM. Os animais do grupo IM-PLAC apresentaram tendência à redução ($P = 0,08$), porém não havendo diferença significativa. Semelhante ao observado 3 dias após o infarto, o consumo de ração 28 dias após o infarto foi menor nos animais infartados, não sendo diferente entre os grupos infartados.

Tabela 6. Parâmetros urinários e ingestão de água e ração vinte e oito dias após o infarto

	SHAM (n=9)	IM-PLAC (n=9)	IM-CARV (n=9)
Água (ml)	36 ± 2,4	31,7 ± 2	25,2 ± 3,1*
Ração (g)	22,1 ± 0,7	17,6 ± 1,2*	16,4 ± 1*
Sódio ingerido (mg)	61,9 ± 2	49,5 ± 3,5*	46 ± 2,7*
Vol. Urinário (ml)	14,5 ± 1,1	15,6 ± 1,2	14,9 ± 1,1

A Tabela 7 apresenta os parâmetros ponderais obtidos 28 dias após a cirurgia. Pode-se observar aumento significativo no peso do pulmão nos animais infartados, não havendo diferença associada ao tratamento.

Tabela 7. Parâmetros ponderais avaliados vinte e oito dias após a cirurgia

	SHAM	IM-PLAC	IM-CARV
	(n=9)	(n=10)	(n=12)
VE (mg)	0,723 ± 0,024	0,643 ± 0,019	0,658 ± 0,023
VE/PC (mg/g)	2,04 ± 0,05	2,13 ± 0,07	2,11 ± 0,06
VD (mg)	0,226 ± 0,01	0,284 ± 0,03*	0,236 ± 0,01#
VD/PC (mg/g)	0,585 ± 0,02	0,826 ± 0,07*	0,680 ± 0,03*#
Pulmão (mg)	1,78 ± 0,08	2,75 ± 0,21*	2,46 ± 0,14*
Pulmão/PC (mg/g)	4,61 ± 0,22	7,66 ± 0,64*	6,87 ± 0,48*
% Água no Pulmão	80,21 ± 0,38	81,39 ± 0,42*	81,30 ± 0,37*
Fígado (g)	14,40 ± 0,57	12,94 ± 0,81	12,29 ± 0,56
Fígado/PC (mg/g)	37,03 ± 0,86	38,23 ± 0,90	35,36 ± 1
% Água no Fígado	70,3 ± 0,11	70,7 ± 0,22	71,0 ± 0,30
Rim (mg)	1,34 ± 0,05	1,18 ± 0,03*	1,21 ± 0,04*
Rim/PC (mg/g)	3,46 ± 0,08	3,26 ± 0,05	3,32 ± 0,09

* $P < 0,05$ vs SHAM, # $P < 0,05$ vs IM-PLAC

4.2.2.2. Teste de Resistência Aeróbica Máxima ao Esforço Físico

Após o período de adaptação à esteira, o teste de tolerância ao exercício foi realizado vinte e oito dias após o procedimento cirúrgico. Pode ser observado na Figura 20 redução expressiva na tolerância ao exercício causada pelo infarto. Porém, o tratamento com carvedilol mostrou melhora parcial da tolerância ao exercício (SHAM: $23,3 \pm 1,8$, IM-PLAC: $11,9 \pm 1,2$, IM-CARV: $17,3 \pm 1,1$ minutos; $P < 0,05$).

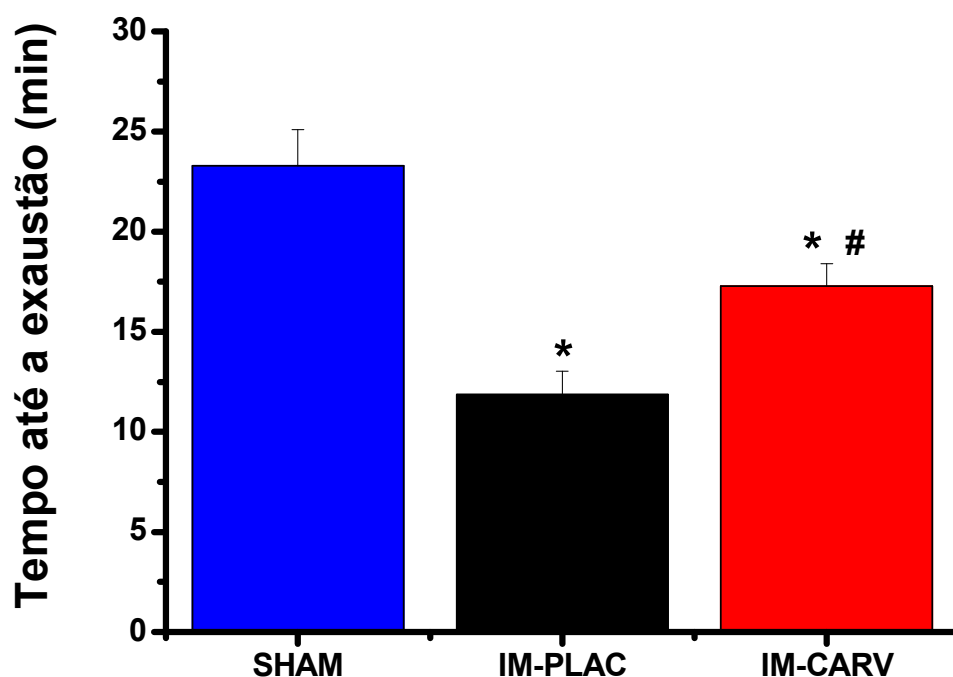


Figura 20. Teste de tolerância máxima ao exercício aeróbico em esteira realizado vinte e oito dias após a cirurgia. Valores foram comparados por ANOVA de uma via, seguido do pos hoc de Tukey. Resultados expressos pela média \pm EPM. * $P < 0,05$ vs SHAM; # $P < 0,05$ vs IM-PLAC

4.2.2.3. Medidas Hemodinâmicas

Na Tabela 8 estão apresentadas as variáveis hemodinâmicas avaliadas vinte e oito dias após o infarto ou a cirurgia fictícia. A FC foi significativamente maior nos animais do grupo IM-PLAC, sendo que o tratamento com carvedilol atenuou esse aumento.

A pressão sistólica do ventrículo esquerdo, $dP/dt+$ e $dP/dt-$ foram significativamente reduzidas nos dois grupos infartados, não havendo diferença significativa associada ao tratamento com carvedilol. Além disso, a PDFVE foi maior nos grupos infartados em relação ao grupo SHAM, sendo que o carvedilol reduziu parcialmente esse parâmetro.

Tabela 8. Parâmetros hemodinâmicos avaliados 28 dias após a cirurgia

	SHAM (n=9)	IM-PLAC (n=9)	IM-CARV (n=12)
FC (bpm)	243 ± 4	276 ± 8*	256 ± 7#
PAS (mmHg)	118 ± 4	99 ± 4*	105 ± 3*
PAD (mmHg)	78 ± 3	76 ± 4	76 ± 4
PSVE (mmHg)	122 ± 4	104 ± 3*	111 ± 3*
PDFVE (mmHg)	4,96 ± 0,4	20,35 ± 2,1*	13,06 ± 3*#
dP/dt + (mmHg/seg)	5982 ± 110	3659 ± 174*	4041 ± 149*
dP/dt – (mmHg/seg)	-4798 ± 166	-2729 ± 140*	-2741 ± 148*

FC, frequência cardíaca; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica; PSVE, pressão sistólica do ventrículo esquerdo; PDFVE, pressão diastólica final do ventrículo esquerdo; dP/dt , derivada máxima de pressão.

* $P < 0,05$ vs SHAM, # $P < 0,05$ vs IM-PLAC

4.2.2.4. Atividade da ECA

A Figura 21 apresenta os resultados do ensaio para mensuração plasmática da atividade da ECA vinte e oito dias após a cirurgia. Não foram observadas diferenças significativas entre os três grupos avaliados (SHAM: $214,9 \pm 17,5$; IM-PLAC: $215,9 \pm 12,4$; IM-CARV: $209,5 \pm 10,3$; $P > 0,05$) (Figura 21)

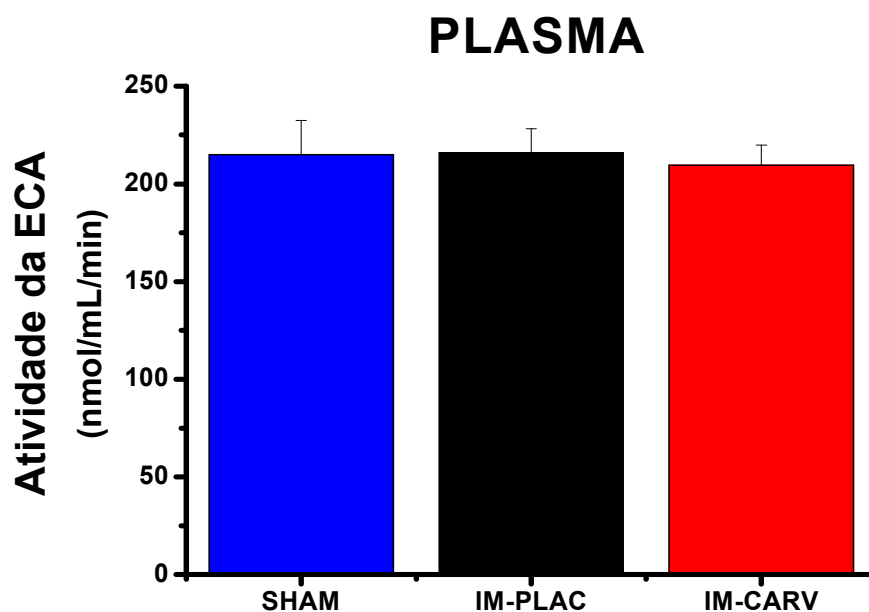


Figura 21. Atividade da ECA plasmática vinte e oito dias após o infarto. Valores foram comparados por ANOVA de uma via.

Quando avaliada no ventrículo esquerdo, a atividade da ECA foi significativamente maior no grupo IM-PLAC. Já os animais tratados com carvedilol não apresentaram aumento significativo na atividade da ECA, apresentando valores semelhantes aos observados no grupo SHAM (SHAM: $43,5 \pm 2,6$; IM-PLAC: $51,1 \pm 1,85$; IM-CARV: $37,1 \pm 2,5$; $P < 0,05$) (Figura 22).

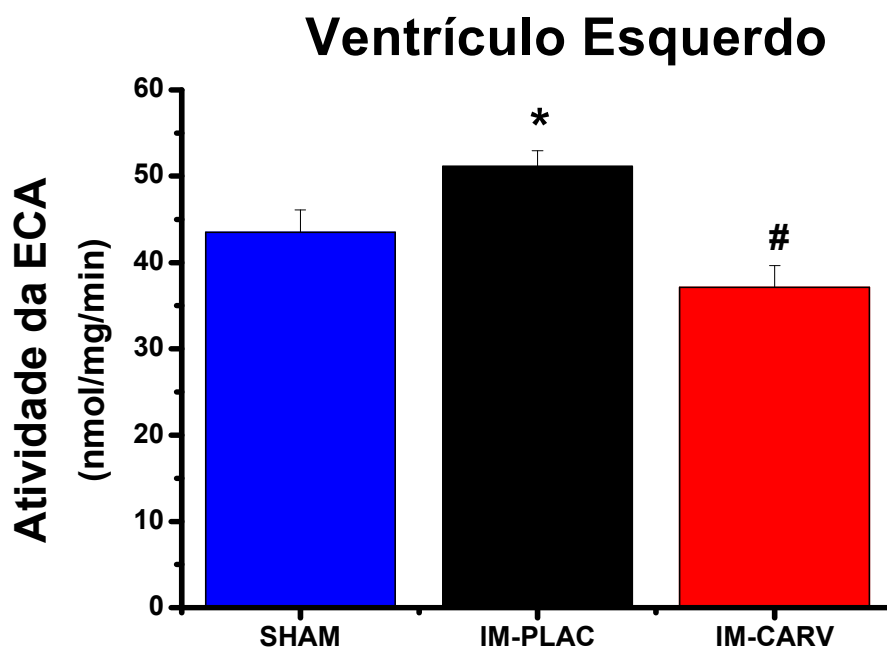


Figura 22. Atividade da ECA no ventrículo esquerdo vinte e oito dias após o infarto. Valores foram comparados por ANOVA de uma via, seguida pelo pos hoc de Tukey. * $P < 0,05$ vs SHAM; # $P < 0,05$ vs IM-PLAC.

4.2.2.5. Expressão Protéica dos Receptores AT₁ e AT₂

A expressão protéica do receptor AT₁ no ventrículo esquerdo avaliada por Western blot vinte e oito dias após a cirurgia mostrou aumento significativo no grupo IM-PLAC comparado ao grupo SHAM. Porém, o tratamento com carvedilol impediu este aumento (SHAM: $0,39 \pm 0,055$; IM-PLAC: $0,65 \pm 0,047$; IM-CARV: $0,46 \pm 0,046$; $P < 0,05$) (Figura 23).

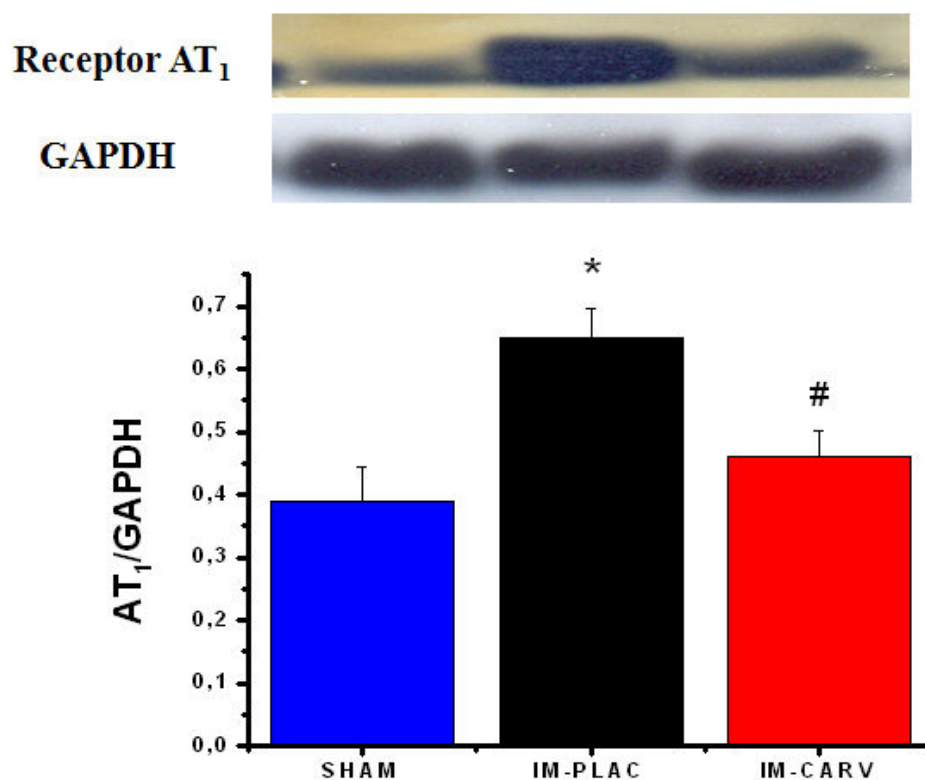


Figura 23. Avaliação da expressão protéica do receptor AT₁ (43 kDa) para angiotensina II vinte e oito dias após o infarto. Valores foram comparados por ANOVA de uma via, seguidos pelo pos hoc de Tukey. * $P < 0,05$ vs SHAM; # $P < 0,05$ vs IM-PLAC.

A expressão protéica do receptor AT_2 no ventrículo esquerdo foi significativamente maior nos grupos infartados quando comparados ao grupo SHAM. Porém, não houve diferença associada ao tratamento com carvedilol (SHAM: $0,17 \pm 0,03$; IM-PLAC: $0,39 \pm 0,04$; IM-CARV: $0,40 \pm 0,05$; $P < 0,05$) (Figura 24).

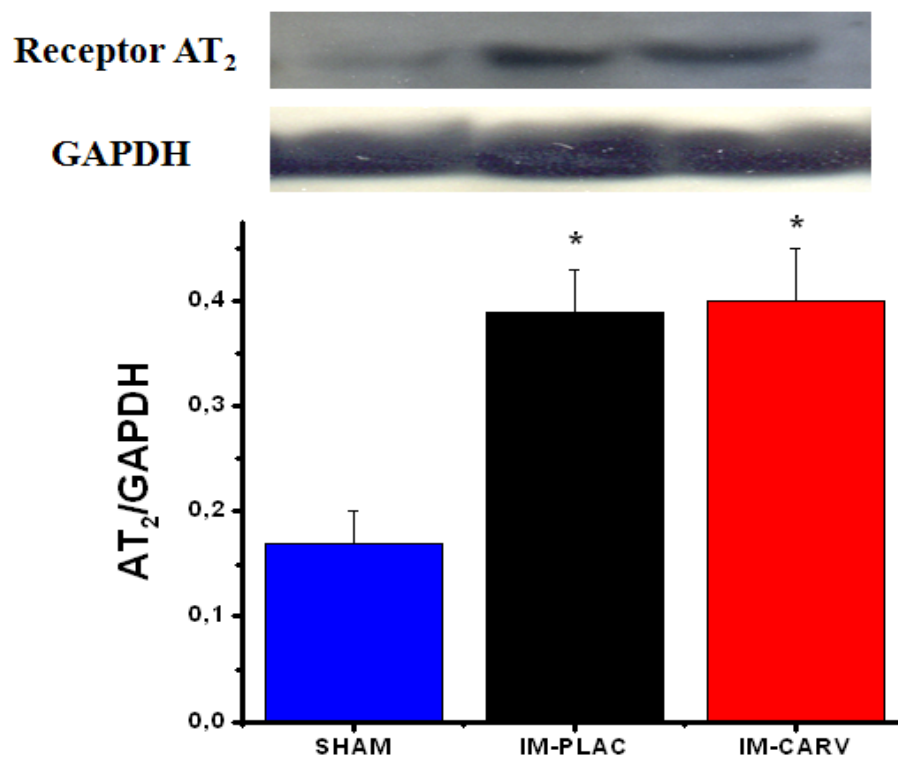


Figura 24. Avaliação da expressão protéica do receptor AT_2 (44 kDa) para angiotensina II vinte e oito dias após o infarto. Valores foram comparados por ANOVA de uma via, seguidos pelo pos hoc de Tukey. * $P < 0,05$ vs SHAM.

4.2.2.6. Curva Pressão-Volume

A Figura 25 apresenta as curvas pressão-volume obtidas com o coração em assistolia vinte e oito dias após o procedimento cirúrgico. É possível observar claramente um desvio para a direita nas curvas referentes aos grupos infartados, indicando maior volume ventricular para determinado valor de pressão. Dessa curva, podem ser obtidos índices relativos à dilatação e rigidez ventricular, conforme descrito em Materiais e Métodos.

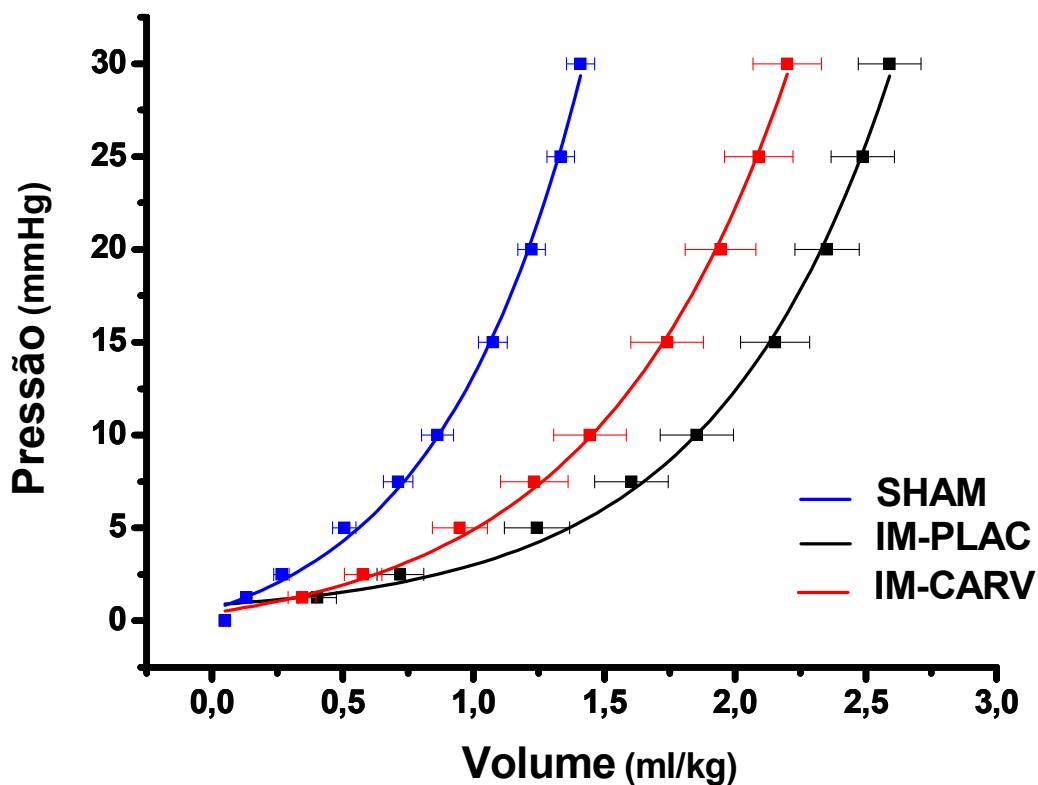


Figura 25. Curvas pressão-volume obtidas em corações após parada cardíaca induzida por infusão de KCl 3M. A pressão intraventricular era constantemente registrada simultaneamente com a infusão de solução fisiológica.

A Figura 26 mostra o primeiro segmento da curva pressão-volume ajustado para uma regressão linear. O índice de dilatação ventricular esquerda foi obtido através da inclinação da reta. Pode ser observado que a regressão referente ao grupo IM-PLAC tem menor inclinação comparado ao grupo SHAM, indicando maior volume intraventricular. Por outro lado, o tratamento com carvedilol reduziu parcialmente a dilatação ventricular causada pelo infarto, observada pela menor inclinação da reta de regressão (SHAM: $10,55 \pm 1,2$; IM-PLAC: $4,43 \pm 0,6$; IM-CARV: $6,67 \pm 0,92$; $P < 0,05$) (Figura 26). Deve ser ressaltado aqui que os valores são referentes à inclinação da reta de regressão. Portanto, quanto menor for a inclinação (indicado por um menor valor), maior será a dilatação ventricular.

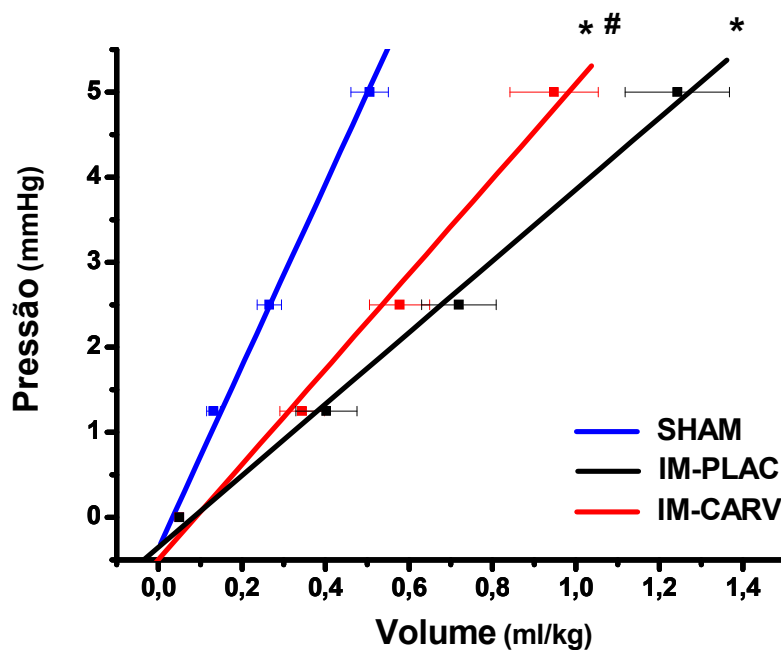


Figura 26. Primeiro segmento da curva pressão volume de onde foi retirado a dilatação ventricular esquerda. Valores foram comparados por ANOVA de uma via, seguidos pelo pos hoc de Tukey. * $P < 0,05$ vs SHAM; # $P < 0,05$ vs IM-PLAC.

A Figura 27 apresenta as constantes de dilatação para os três grupos avaliados. Houve correlação significativa entre a dilatação ventricular e a PDFVE ($r = -0,48$, $P = 0,017$) (Figura 28).

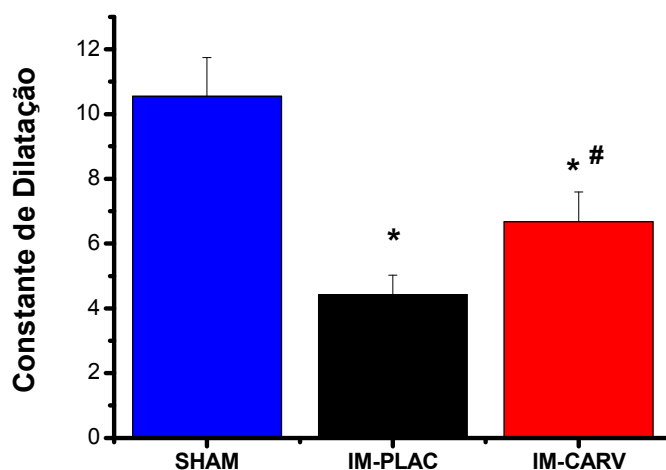


Figura 27. Constante de dilatação obtida pelo cálculo do coeficiente angular da reta. Valores foram comparados por ANOVA de uma via, seguidos pelo pos hoc de Tukey. * $P < 0,05$ vs SHAM; # $P < 0,05$ vs IM-PLAC.

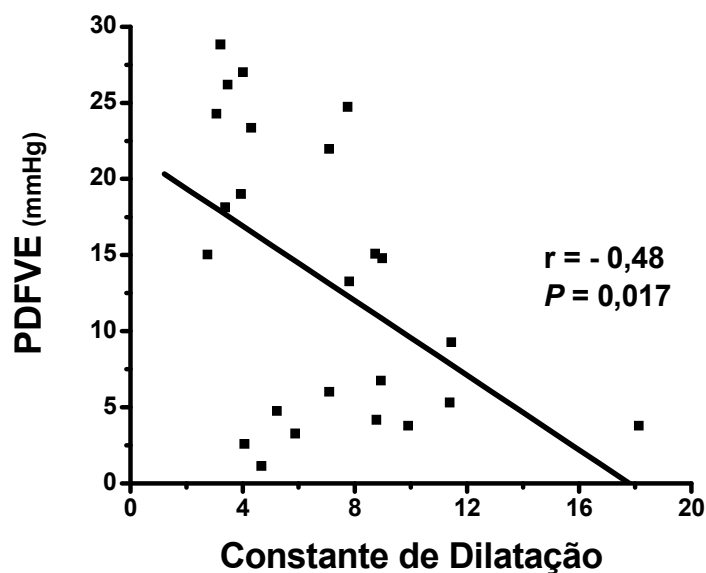


Figura 28. Análise de correlação de Pearson entre a constante de dilatação e a PDFVE.

No segundo segmento da curva (Figura 29), referente à pressão intraventricular entre 5 e 30 mmHg, pode ser feita inferência sobre a rigidez ventricular. Pode ser observada uma menor rigidez ventricular esquerda nos animais infartados, não sendo detectada diferença associada ao tratamento (SHAM: $0,869 \pm 0,057$; IM-PLAC: $0,585 \pm 0,031$; IM-CARV: $0,621 \pm 0,041$; $P < 0,05$) (Figura 30). É importante lembrar que nesse modelo de infarto por oclusão permanente da artéria coronária a avaliação da rigidez é um parâmetro limitado pois sofre influência da rigidez da cicatriz e do miocárdio remanescente ao infarto, uma vez que utilizamos o ventrículo inteiro para essa análise.

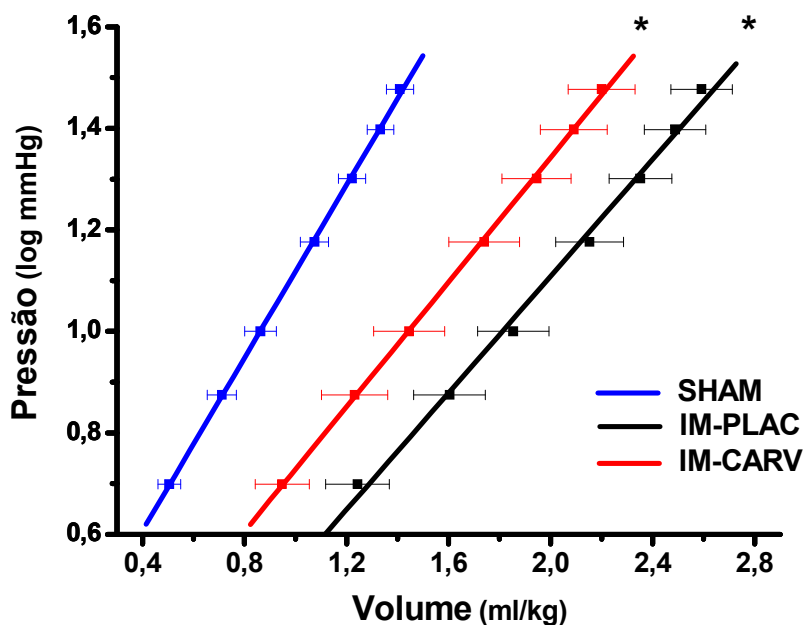


Figura 29. Segundo segmento da curva pressão volume de onde foi retirada a rigidez ventricular. Valores foram comparados por ANOVA de uma via, seguidos pelo pos hoc de Tukey. * $P < 0,05$ vs SHAM.

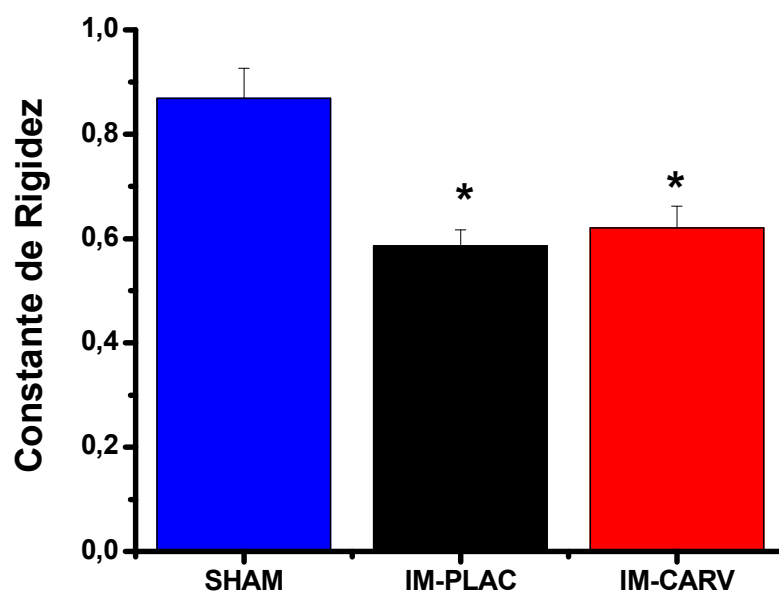


Figura 30. Constante de rigidez obtida pelo cálculo do coeficiente angular da reta. Valores foram comparados por ANOVA de uma via, seguidos pelo pos hoc de Tukey. * $P < 0,05$ vs SHAM; # $P < 0,05$ vs IM-PLAC.

4.2.2.7. Avaliação da Extensão do Infarto

Vinte e oito dias após a oclusão da artéria coronária, a extensão do infarto avaliada por planimetria digital após coloração com Picrosirius não foi diferente entre os grupos infartados (IM-PLAC: $49,86 \pm 1$ e IM-CARV: $46,6 \pm 2,2$ %; $P > 0,05$). Nenhum animal no grupo SHAM apresentou área visível corada com picrosirius. A Figura 30 apresenta cortes histológicos representativos na parte superior, e um Box-plot mostrando a dispersão das medidas.

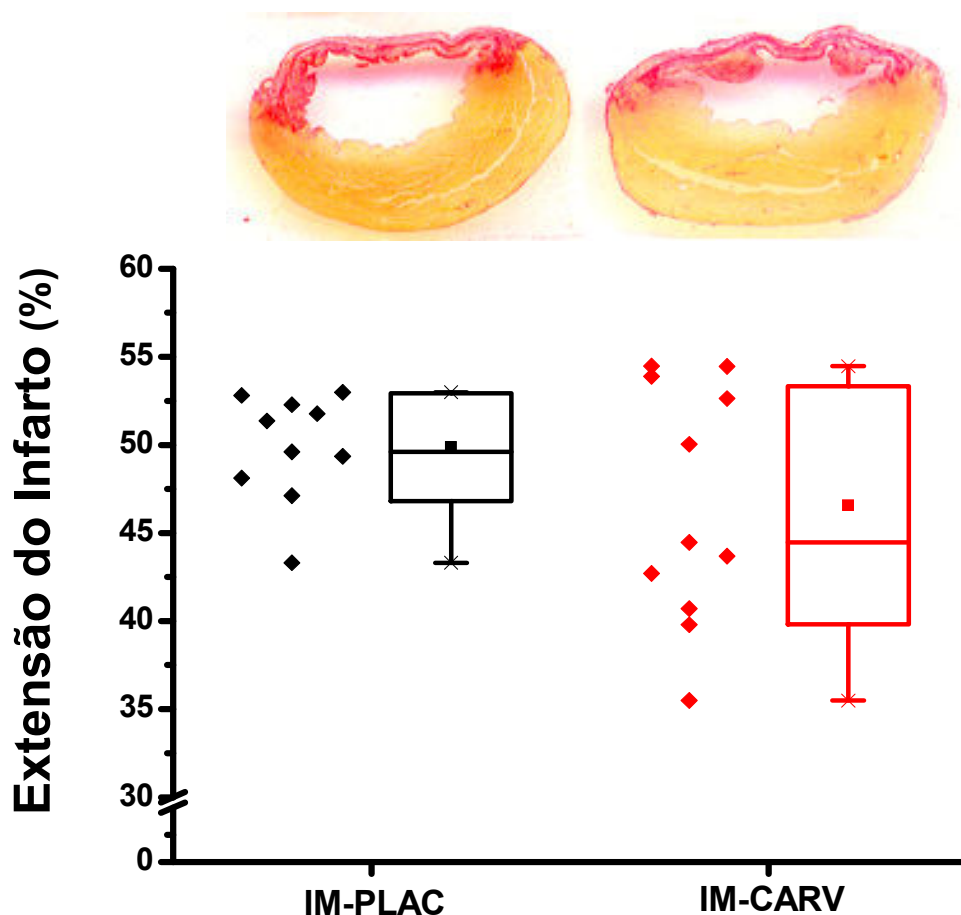


Figura 30. *Box-plot* mostrando a área do infarto avaliada vinte e oito dias após o infarto. Os resultados foram comparados com teste *t* de Student. O *box* representa o desvio padrão, a linha horizontal representa a mediana, o quadrado menor no interior do *box* representa a média, as delimitações superior e inferior representam o percentil 5 e 95 %.

A Figura 31 mostra que não houve correlação significativa entre a constante de dilatação e a extensão do infarto ($r = -0,065$; $P > 0,05$). Da mesma forma, não detectamos correlação entre a PDFVE e a extensão do infarto medida 28 dias após o infarto ($r = -0,013$; $P > 0,05$) (Figura 32).

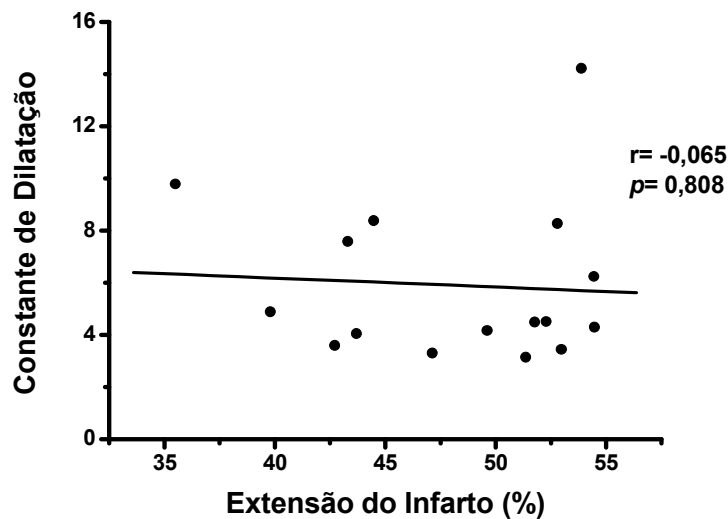


Figura 31. Análise de correlação de Pearson entre a constante de dilatação e a extensão do infarto.

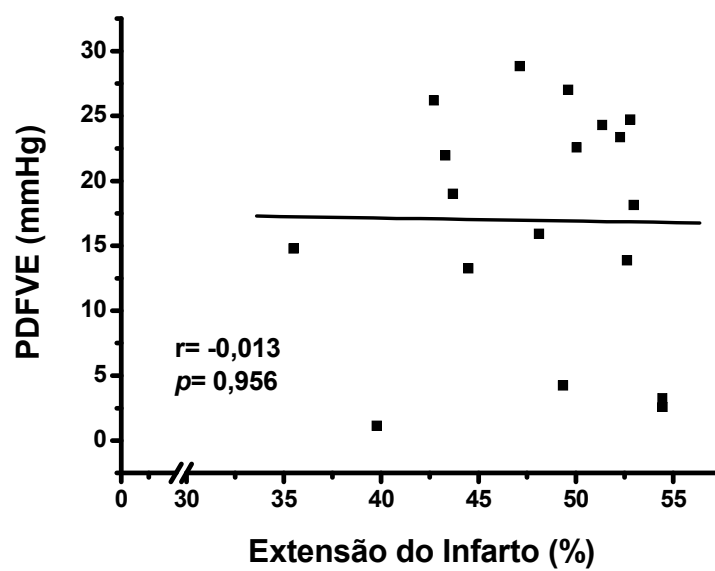


Figura 32. Análise de correlação de Pearson entre a extensão do infarto e a PDFVE.

4.2.2.8. Avaliação do Colágeno Intersticial

A área do miocárdio remanescente ao infarto ocupada por colágeno, excluindo as áreas de transição, foi avaliada em cortes transversais do ventrículo esquerdo corados com picrosirius. A parte superior da Figura 33 mostra imagens representativas do miocárdio. Um aumento expressivo na deposição de colágeno foi observado nos dois grupos infartados quando comparados ao grupo SHAM. Porém, o tratamento com carvedilol reduziu parcialmente a deposição de colágeno no miocárdio após o infarto (SHAM: $1,8 \pm 0,3$ (n=9); IM-PLAC: $7,1 \pm 0,5$ (n=10); IM-CARV: $5,4 \pm 0,5$ (n=10); $P < 0,05$).

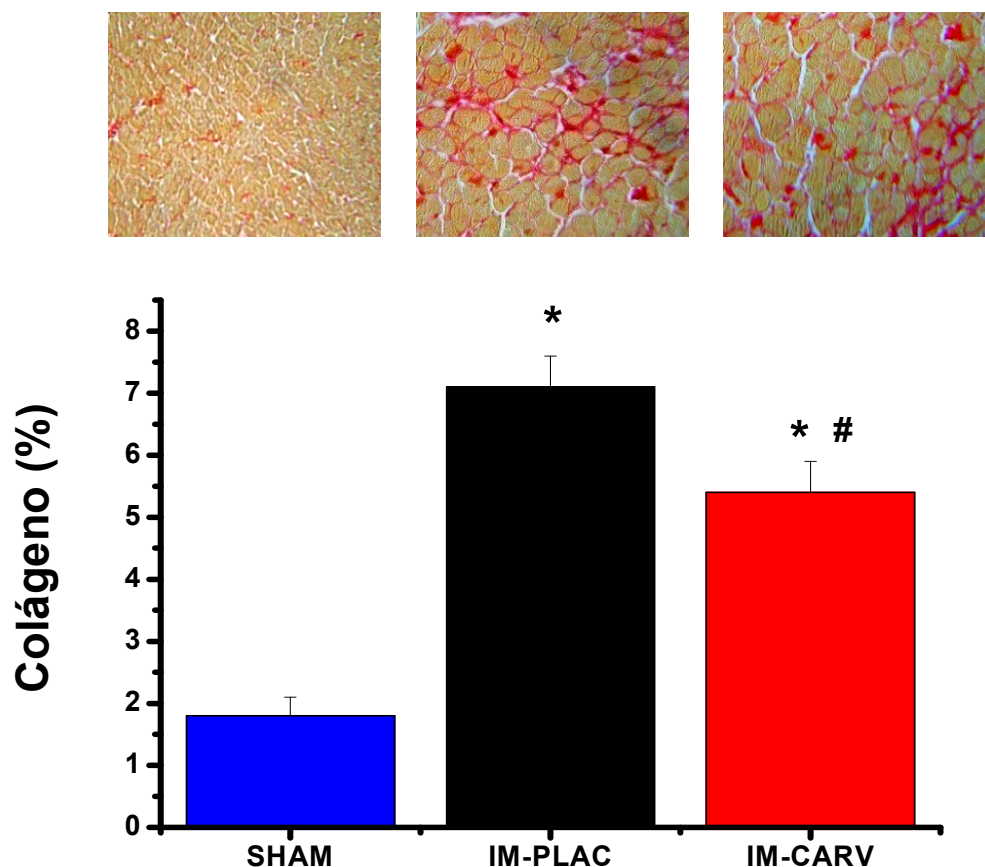


Figura 33. Avaliação da área ocupada por colágeno no miocárdio remanescente ao infarto após coloração com picrosirius red. Foram fotografados e analisados 6 campos para cada corte, em aumento de 400 vezes. Valores foram comparados por ANOVA de uma via, seguidos pelo pos hoc de Tukey. * $P < 0,05$ vs SHAM; # $P < 0,05$ vs IM-PLAC.

4.2.2.9. Avaliação da Hipertrofia Cardíaca

A parte superior da Figura 34 mostra cortes histológicos representativos do miocárdio corados com hematoxilina e eosina. A área de secção transversa do miócito foi maior nos dois grupos infartados em relação ao grupo SHAM, não sendo detectada diferença significativa associada ao tratamento com carvedilol (SHAM: $393,1 \pm 16$ (n=9); IM-PLAC: $574,2 \pm 14,5$ (n=10); IM-CARV: $562,9 \pm 11,6$ (n=10); $P < 0,05$).

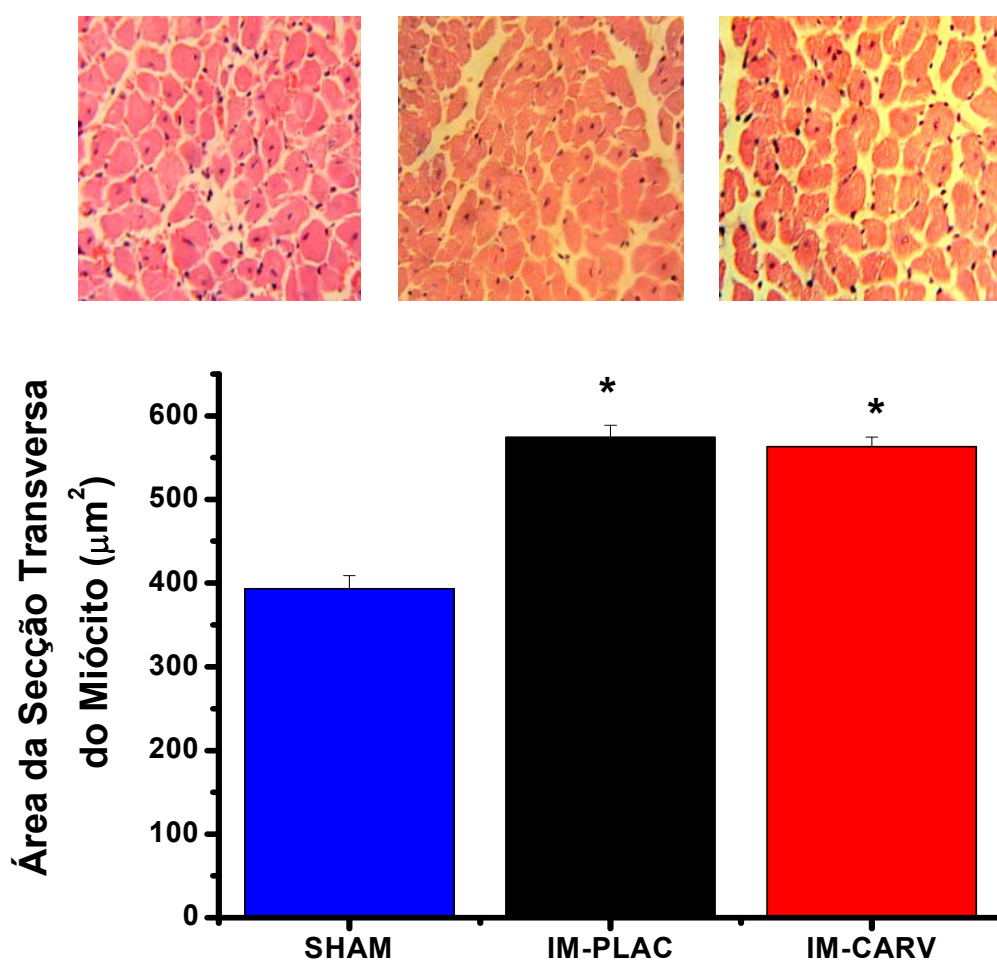


Figura 34. Avaliação da hipertrofia cardíaca pela medida da área de secção transversa do miócito em lâminas coradas com hematoxilina e eosina. Foram fotografados e analisados 30-50 miócitos em cada corte, sob aumento de 400 vezes. Valores foram comparados por ANOVA de uma via, seguidos pelo pos hoc de Tukey. * $P < 0,05$ vs SHAM.

4.2.2.10. Avaliação da Mortalidade

Ao final do segundo protocolo, o efeito do tratamento com carvedilol sobre mortalidade global foi avaliado. É importante lembrar que a mortalidade dentro das primeiras vinte e quatro horas após a cirurgia não está incluída nas análises. As figuras 35, 36 e 37 apresentam as curvas de mortalidade baseadas no método de Kaplan-Meier avaliada em diferentes períodos. Nove animais morreram até o terceiro dia, sendo 7 pertencentes ao grupo IM-PLAC e 2 ao grupo IM-CARV. O teste log rank não alcançou significância estatística, porém mostrando tendência ($P=0,165$) de redução da mortalidade dentro dos três primeiros dias seguidos ao infarto (Figura 35).

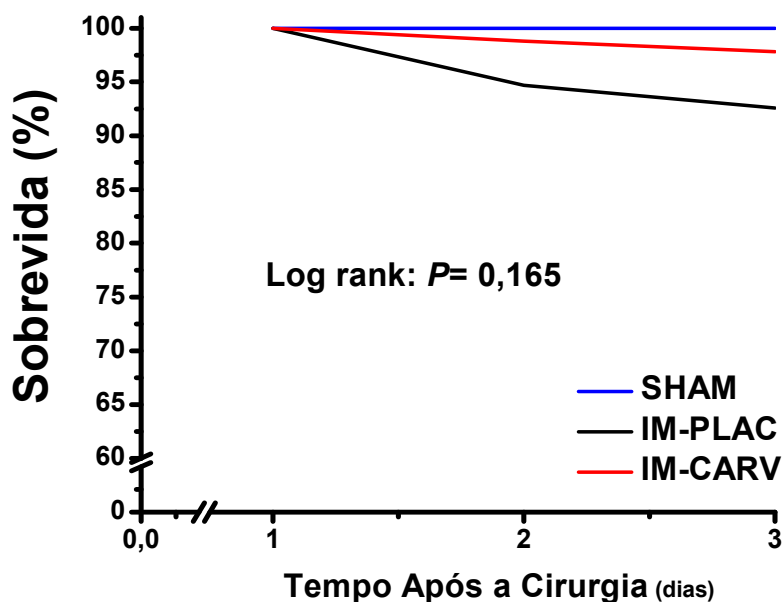


Figura 35. Curva de Kaplan-Meier para a mortalidade ao longo dos três primeiros dias após a cirurgia, excluindo as mortes nas primeiras vinte e quatro horas após o procedimento cirúrgico.

Durante os primeiros 7 dias após o infarto, 26 animais morreram, sendo 19 no grupo IM-PLAC e 7 no grupo IM-CARV. A análise de log rank evidenciou diferença significativa na mortalidade entre os grupos infartados ($P = 0,01$), mostrando que o tratamento com carvedilol reduz a mortalidade em uma fase precoce ao infarto (Figura 36).

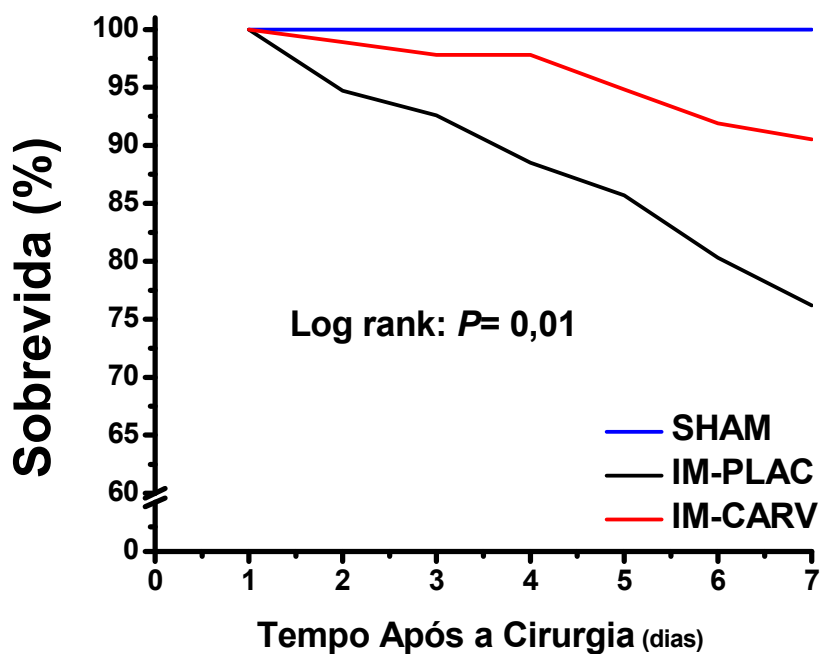


Figura 36. Curva de Kaplan-Meier para a mortalidade ao longo de 7 dias após a cirurgia, excluindo as mortes nas primeiras vinte e quatro horas após o procedimento cirúrgico.

Durante todo o protocolo, 35 ratos morreram. Desses, 25 pertenciam ao grupo IM-PLAC e 10 ao grupo IM-CARV. Pode-se observar na Figura 37 um aumento significativo na sobrevivência ao longo dos vinte e oito dias de acompanhamento no grupo que recebeu tratamento com carvedilol (IM-PLAC: 64,2 % VS. IM-CARV: 83,1%; $P<0,05$).

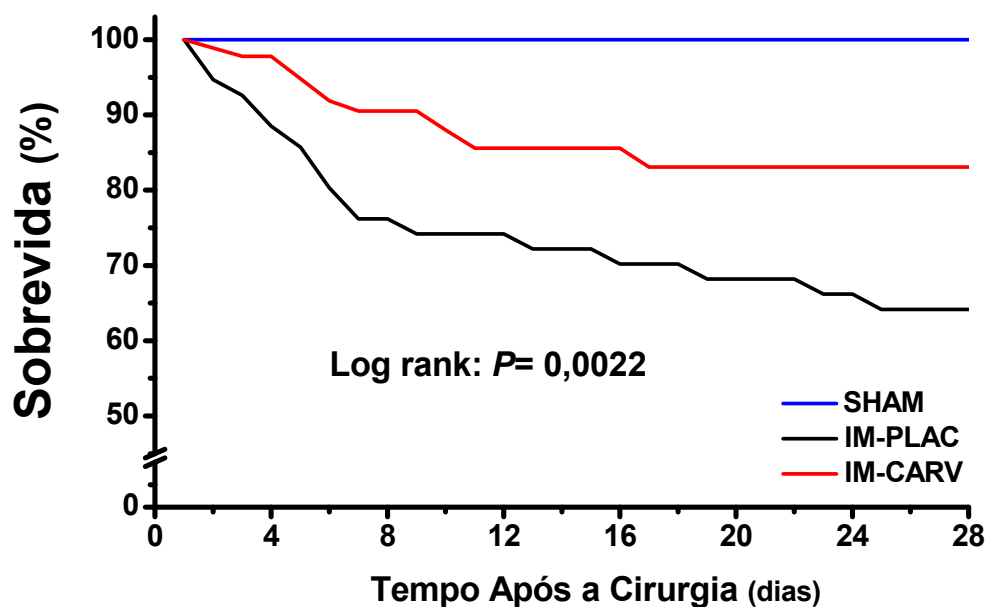


Figura 37. Curva de Kaplan-Meier para a mortalidade ao longo de vinte e oito dias após a cirurgia, excluindo as mortes nas primeiras vinte e quatro horas após o procedimento cirúrgico.

A subamostra que foi avaliada em gaiola metabólica no terceiro dia após o infarto (13 animais do grupo IM-PLAC e 11 animais do grupo IM-CARV) foi acompanhada até o vigésimo oitavo dia. Desses, 6 animais morreram após o terceiro dia. A Tabela 9 mostra a análise retrospectiva dos animais que sobreviveram durante 28 dias após o infarto e aqueles que morreram após o terceiro dia. Observamos no terceiro dia após o infarto menor consumo de ração e água, assim como menor peso corporal nos animais que morreram durante o período de acompanhamento.

Tablea 9. Consumo de água e ração e peso corporal dos animais no terceiro dia

	Vivos (n=18)	Mortos (n=6)
Peso corporal (g)	259 ± 2	227 ± 5*
Água (ml)	33,4 ± 1,6	18 ± 2,9*
Ração (g)	15,8 ± 0,6	7,1 ± 1,8*
Vol. Urinário (ml)	14,6 ± 1,1	8,17 ± 1,2*

5. DISCUSSÃO

5.1. Principais resultados do presente estudo

Um sumário com os principais resultados encontrados no estudo estão ilustrados na Figura 38.

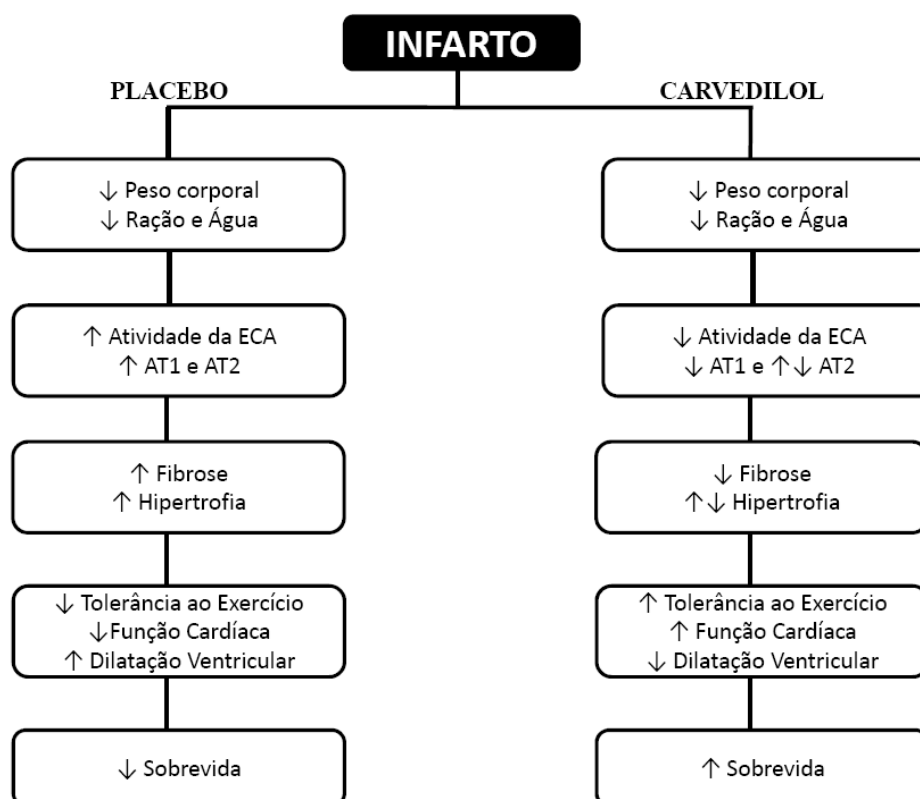


Figura 38. Diagrama mostrando os efeitos do tratamento com carvedilol após o infarto do miocárdio em ratos.

Observamos redução significativa do peso corporal já no terceiro dia após o infarto, acompanhada de menor consumo de ração e água. Os animais apresentaram grande déficit hemodinâmico com redução da PSVE e da dP/dt , e aumento

expressivo da PDFVE. Houve aumento na expressão protéica dos receptores AT_1 e AT_2 no ventrículo esquerdo, assim como aumento na atividade tecidual da ECA três dias após o infarto. Vinte e oito dias após o infarto, os animais permaneciam com menor peso corporal e com menor consumo de ração. O infarto reduziu a tolerância ao exercício físico, além de deterioração da função cardíaca com redução da PSVE e da dP/dt , e grande dilatação ventricular. A expressão protéica dos receptores AT_1 e AT_2 permaneceu aumentada, assim como a atividade tecidual da ECA. Hipertrofia cardíaca e fibrose intersticial excessiva foram observadas no miocárdio remanescente ao infarto. Esse conjunto de resultados corroboram a alta taxa de mortalidade observada durante os 28 dias de acompanhamento.

O tratamento com carvedilol iniciado vinte e quatro horas após o infarto em ratos atenuou a disfunção hemodinâmica evidenciada três dias após o infarto. Além disso, o carvedilol impediu a superexpressão precoce do receptor AT_1 no ventrículo esquerdo e o aumento na atividade da ECA, sem alterar sua atividade plasmática. Esses efeitos hemodinâmicos e moleculares observados na fase aguda do infarto persistiram durante as 4 semanas de acompanhamento. Isso se traduziu funcionalmente em aumento da tolerância ao esforço aeróbico e melhora hemodinâmica. Estruturalmente, esses efeitos garantiram menor deposição de colágeno no miocárdio e redução da dilatação ventricular, sem alteração da hipertrofia cardíaca na área remanescente ao infarto. Por fim, e com importância fundamental, a mortalidade após o infarto foi significativamente reduzida pelo tratamento com carvedilol, reforçando a importância dos efeitos inicialmente observados.

5.2. Aspectos Iniciais à Discussão

Antes de iniciar a discussão dos resultados apresentados anteriormente, é necessário ressaltar que em muitos pontos dessa discussão, os nossos resultados foram confrontados com estudos clínicos. Isso aconteceu por dois motivos. Primeiro, para avaliar a adequação do modelo experimental usado aqui como uma estratégia válida para o que ele se propõe. Segundo, porque alguns aspectos da discussão carecem de dados experimentais para comparação. Diante disso, para assegurar a discussão dos dados obtidos, aceitamos as possíveis limitações das comparações com os estudos clínicos.

É importante ressaltar aqui que não é o objetivo do presente trabalho qualquer comparação de efeitos com outra classe farmacológica. Não será discutida neste trabalho a possível substituição de um fármaco ou classe farmacológica por outro. Este é um questionamento legítimo e de grande interesse para a prática clínica (Fang, 2005; Remme, 2005; Remme, 2007). Porém, para que sejam feitas adequadamente, as comparações entre as diferentes terapias necessitam de protocolos específicos que serão realizados futuramente em outros trabalhos.

A escolha por iniciar o tratamento apenas vinte e quatro horas após o infarto foi baseado nos resultados obtidos com o primeiro protocolo. Esse protocolo foi idealizado para avaliar os efeitos do carvedilol durante a fase aguda do infarto. Idealizávamos inicialmente estudar os efeitos agudos do tratamento com carvedilol sobre a apoptose e o estresse oxidativo precocemente à oclusão da artéria coronária. Porém, os resultados obtidos em relação a mortalidade dentro das primeiras vinte e quatro horas e a inalteração da área infartada nos desencorajou da idéia de iniciar o tratamento imediatamente após o infarto, pois poderíamos ter a interferência do efeito da redução da mortalidade, comprometendo assim os resultados sobre o desenvolvimento do remodelamento ventricular a curto e a longo-prazo.

Por fim, outro aspecto importante que merece destaque neste tópico é a produção do infarto. Nota-se que há uma homogeneidade na área (vinte e quatro horas e três

dias) e na extensão do infarto (vinte e oito dias) no grupo IM-PLAC (coeficiente de variação: 24 horas = 13,9%; 3 dias = 8,8%; 28 dias = 6,1%) . A opção pelo uso de infartos de grande extensão foi com o intuito de causar um déficit funcional realmente importante. De acordo com descrições prévias (Pfeffer et al., 1979; Fletcher et al., 1981; Pfeffer et al., 1985), a extensão do infarto está fortemente associada com a dilatação ventricular, disfunção hemodinâmica, e a mortalidade principalmente em infartos extensos. Esse efeito da área de infarto pôde ser observado pelo grau de disfunção ventricular e pela alta taxa de mortalidade observada no decorrer do protocolo.

5.3. Avaliações Físicas e Extensão do Infarto

De acordo com Faria et al. (2011), animais com PDFVE elevada apresentam redução do peso corporal e menor ingestão de ração e água sete dias após o infarto. Nossos dados corroboram os achados de Faria et al. (2011), mostrando menor consumo de ração já no terceiro dia, e redução do peso corporal que permaneceu menor ao longo das 4 semanas de acompanhamento. Redução de peso semelhante foi observada por Sartório et al. (2005) no terceiro dia após o infarto. Da mesma forma, vários estudos mostram menor peso corporal 4 semanas após o infarto (Nagaya et al., 2001; Palus et al., 2009). A explicação para essa perda aguda de peso aguda pode estar relacionada a uma atividade inflamatória excessiva. Estudos mostram os efeitos do TNF- α como um fator anorexígeno, estando envolvido diretamente na perda do apetite e caquexia em diversas condições (Ling et al., 1997; Raina & Jeejeebhoy, 1998; Steffen et al., 2008). O TNF- α está precocemente elevado após o infarto do miocárdio e na insuficiência cardíaca. Isso poderia ativar o sistema de ubiquitinação levando a proteólise. Esses efeitos progridem com a caquexia e a morte do animal (Kung et al., 2011). Nossos dados estão de acordo com essa hipótese, mostrando que a perda excessiva de peso corporal e reduzida ingestão de ração e água precocemente ao infarto estão associados à menor sobrevida após o infarto.

Não observamos diferenças significativas associadas ao tratamento com carvedilol na recuperação do peso corporal ou do apetite. Apesar dos efeitos já descritos para o carvedilol em reduzir os níveis plasmáticos de citocinas pró-inflamatórias tanto em modelos experimentais quanto em pacientes após o infarto do miocárdio (Matsumura et al., 2002; Li et al., 2006; Alfieri et al., 2008), isso não foi suficiente para reverter esses parâmetros físicos. Lynch & Ryall (2008) mostraram que a atenuação da perda de massa muscular e caquexia observados em diversas condições como por exemplo a sarcopenia, câncer, síndrome da imunodeficiência humana dentre outros, é dependente da sinalização β -adrenérgica. Essa pode ser a explicação para a ausência de efeitos associados ao tratamento com carvedilol, já que o carvedilol impede a ativação dessa via.

Asanuma et al. (2004) mostraram que a infusão de carvedilol reduz a área de infarto em cães submetidos a isquemia seguida por reperfusão. Porém, ao contrário do que foi observado por Asanuma et al. (2004), não observamos alterações na área de infarto mediada pela administração aguda de carvedilol após o infarto. Os efeitos responsáveis pela redução da área infartada seriam por redução do estresse oxidativo e da apoptose. Semelhante, a infusão de metoprolol durante a reperfusão reduz a lesão isquêmica em ratos (Zhu et al., 2006). Porém, em experimento semelhante, o tratamento com carvedilol não reduziu a área de infarto (Starkopf et al., 2006). Uma possível explicação para isso pode estar na ausência de reperfusão no modelo utilizado em nosso estudo. Já é conhecido que durante a reperfusão ocorre produção maciça de radicais livres e de apoptose. Outra possibilidade pode estar na extensa área de infarto utilizada, dificultando os efeitos significativos.

Quando o tratamento com carvedilol foi iniciado 24 horas após o infarto, passando o período crítico de produção excessiva de radicais livres e de morte celular, não observamos alterações significativas na área de infarto 3 dias após o infarto, nem na extensão da lesão após 4 semanas. Esses dados são similares às descrições feitas por outros autores em que não observaram alterações na extensão do infarto com o tratamento com carvedilol, apesar de melhoras funcionais significativas (Yang et al., 2002; Yang et al., 2003; Sun et al., 2005; Li et al., 2006).

5.4. Parâmetros Funcionais

No presente estudo, observamos que o tratamento com carvedilol garantiu melhoras funcionais importantes em uma fase muito precoce do desenvolvimento do remodelamento ventricular, efeitos que persistiram por quatro semanas após o infarto. Essa melhora funcional tem impacto direto na sobrevivência, como será discutido posteriormente.

São vários os mecanismos propostos para tentar explicar os efeitos benéficos do carvedilol sobre a função cardíaca após o infarto. Um desses mecanismos pode estar na redução da frequência cardíaca associada ao bloqueio dos receptores β -adrenérgicos. A frequência cardíaca é precocemente aumentada após o infarto e na insuficiência cardíaca (Mill et al., 1991; Faria et al., 2011), estando diretamente associada à mortalidade (Lechat et al., 2001). Inicialmente, esse aumento na frequência cardíaca compensa parte da queda do débito cardíaco, à custa do aumento da pressão de enchimento ventricular. Porém, a frequência cardíaca aumentada leva ao maior consumo metabólico pelo miocárdio, além da redução da perfusão coronariana (Heusch, 2008). Esses fatores em conjunto contribuem para a redução da contratilidade, para a dilatação ventricular, hipertrofia cardíaca e aumento na deposição de colágeno no miocárdio remanescente ao infarto. Em contrapartida, os β -bloqueadores agem reduzindo a frequência cardíaca. Apesar da limitação assumida pela realização das medidas hemodinâmicas em animais anestesiados, a frequência cardíaca apresentou grande tendência a redução no grupo que recebeu tratamento com carvedilol já no terceiro dia após o infarto. Vinte e oito dias após o infarto, porém, a frequência cardíaca foi significativamente reduzida pelo carvedilol. Inúmeros estudos mostram efeitos dos β -bloqueadores na redução da frequência cardíaca (Wei et al., 2000; Watanabe et al., 2000; Yang et al., 2003; Sun et al., 2005). Porém, os efeitos benéficos dos β -bloqueadores não estão associados somente à redução da frequência cardíaca. Isso pôde ser observado no trabalho realizado por Maczewski & Mackiewicz (2008), comparando os efeitos do metoprolol com os efeitos da ivabradina, um inibidor seletivo da corrente I_f que reduz a frequência cardíaca. Os autores observaram efeitos similares na recuperação da

função cardíaca entre os dois fármacos. Porém, os animais tratados com metoprolol apresentaram efeitos adicionais não observados com a ivabradina, tais como menor dilatação ventricular e menor hipertrofia cardíaca, com preservação da contratilidade em miócitos isolados. Isso mostra que apesar dos benefícios associados à redução da frequência cardíaca observados com β -bloqueadores, esse não parece ser o único efeito mediador dos benefícios desses fármacos. A frequência cardíaca observada em alguns estudos utilizando o carvedilol foi reduzida a valores menores que os encontrados nos animais do grupo submetido à cirurgia fictícia (Wei et al., 2000; Yang et al., 2003; Sun et al., 2005). Em nosso estudo, isso não ocorreu provavelmente pela depressão causada pelo uso da mistura anestésica contendo quetamina e xilazina, fato já demonstrado na literatura como sendo causador de uma depressão importante no sistema cardiovascular (Roth et al., 2002; Peña & Wolska, 2005; Stein et al., 2007).

Outro importante fator associado a um pior prognóstico é a elevação PDFVE. Como demonstrado previamente (Pfeffer et al., 1979; Saraiva et al., 2007; Santos et al., 2009), incrementos na PDFVE estão linearmente associados à variações na extensão do infarto, mostrando que em infartos extensos há aumento expressivo na PDFVE. Nossos dados corroboram essa idéia, mostrando níveis bastante elevados de PDFVE após o infarto. É importante observar que o incremento na PDFVE ocorreu precocemente ao infarto (três dias). Esses dados estão em acordo com descrições feitas por outros autores (Saito et al., 2003; Sartório et al., 2005), mostrando aumento significativo da PDFVE três dias após o infarto em ratos. Avaliando o curso temporal das alterações geradas pelo infarto do miocárdio em ratos através da ressonância magnética, Prunier et al. (2005) observaram aumento significativo do volume diastólico final já no terceiro dia seguido ao infarto, além de redução na fração de ejeção do ventrículo esquerdo. Com esse aumento na pressão de enchimento ventricular, observamos como consequência aumento do peso do pulmão e hipertrofia do ventrículo direito. Similar ao observado três dias após o infarto, a PDFVE permanece reduzida quatro semanas após o infarto nos animais tratados com carvedilol. Resultados semelhantes foram observados após seis semanas de tratamento com carvedilol em ratos infartados (Sun et al., 2005). Yang et al. (2003) mostrou que a redução da PDFVE quatro semanas após o tratamento

foi dependente da dose (0,1 a 10 mg/kg/d), evidenciando que o incremento da dose produzem melhores efeitos. Esses resultados assemelham-se aos descritos por Li et al. (2006) mostrando que o carvedilol impede a deterioração da função cardíaca quatro semanas após o infarto, com redução da PDFVE e restauração da $dP/dt+$. Além disso, em um modelo de infarto do miocárdio em ratos o tratamento com carvedilol após cirurgia de plicatura do ventrículo esquerdo atenuou o aumento da PDFVE e a dilatação ventricular (Yoshikawa et al., 2010).

Além da PDFVE, outros parâmetros estão deteriorados precocemente ao infarto, como a $dP/dt+$ e $dP/dt-$ e a PSVE (Saito et al., 2003; Sartório et al., 2005; Faria et al., 2011). A redução da PSVE e da $dP/dt+$ e $dP/dt-$ também foram observadas em nosso estudo três dias após o infarto. Isto evidencia que os animais infartados exibem deterioração precoce da função ventricular. De forma similar, quando a avaliação foi realizada quatro semanas após o infarto, observamos que a $dP/dt+$ e $dP/dt-$ e da PSVE permaneceram reduzidas. Esses resultados assemelham-se a relatos mostrando aumento significativo da PDFVE e comprometimento da dP/dt quatro semanas após o infarto (DeFelice et al., 1989; Mill et al., 2003). É importante destacar que esses dados reforçam a hipótese que as repercussões funcionais decorrem de alterações ocorridas durante a fase aguda do infarto, uma vez que as alterações funcionais observadas quatro semanas após o infarto são similares às observadas apenas três dias seguidos ao infarto.

Outro importante relato foi feito por Sun et al. (2005), mostrando que os efeitos benéficos do carvedilol sobre a função cardíaca de ratos infartados se devem a preservação das proteínas envolvidas na sinalização intracelular do cálcio. Os autores observaram aumento da expressão protéica de SERCA (sigla derivada do inglês "*sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase*") nos animais tratados com carvedilol (Sun et al., 2005). Além disso, foi observado que o carvedilol reduz a concentração intracelular de cálcio pela inibição do canal de cálcio tipo T (Deng et al., 2009). Sabe-se que a sobrecarga intracelular de cálcio após o infarto leva a comprometimento contrátil, disfunção mitocondrial, formação de espécies reativas do oxigênio e apoptose (Balke & Shorofsky, 1998; Nakayama et al., 2007; Qian et al., 2004). Em cardiomiócitos em cultura, o aumento de apoptose induzida por adição de peróxido de hidrogênio foi abolido pelo carvedilol. Esse efeito foi mediado

por redução da sobrecarga intracelular de cálcio e da preservação da função mitocondrial (Wang et al., 2006). Porém, os efeitos relatados por Wang et al. (2006) não foram evidenciados com o uso do atenolol, metoprolol ou propranolol, mostrando ser este um efeito exclusivo do carvedilol, não havendo evidências de efeitos de classe, pelo menos no que diz respeito a alterações na dinâmica do cálcio. Esses efeitos do carvedilol sobre a função mitocondrial foram relatados por outros autores (Oliveira et al., 2000; Oliveira et al., 2004). Kametani et al. (2006) mostraram que o carvedilol impediu a produção de espécies reativas do oxigênio causada pela sobrecarga intracelular de cálcio, efeito não observado com o uso do metoprolol (Kametani et al., 2006) ou propranolol (Oliveira et al., 2004). Esse efeito do carvedilol na redução do estresse oxidativo também foi observado quatro semanas após o infarto em ratos (Zhuang et al., 2009).

Outra possível explicação para os benefícios do carvedilol após o infarto pode estar em sua ação sobre o processo inflamatório. Foi evidenciado que o tratamento com carvedilol reduz a expressão de TNF- α , IL-1 β e IL-6 no miocárdio quatro semanas após o infarto (Li et al., 2006). Resultados semelhantes foram observados por Sia et al. (2002) mostrando redução na expressão de IL-1 β no miocárdio de ratos infartados tratados com carvedilol. Reduções nos níveis plasmáticos de TNF- α e IL-1 β , assim como a redução da expressão miocárdica dessas citocinas foram evidenciadas em um modelo de insuficiência cardíaca gerado por miocardite em ratos (Liu et al., 2010). Em fibroblastos em cultura, a estimulação com noradrenalina elevou em 50 vezes a expressão de IL-6, mostrando que a hiperatividade adrenérgica influencia no aumento da expressão dessas citocinas pró-inflamatórias. Esses resultados foram comprovados quando o carvedilol foi adicionado ao meio de cultura, praticamente abolindo a expressão dessa citocina. Resultados similares aos encontrados na experimentação animal foram observados em estudos clínicos. Por exemplo, o tratamento com carvedilol em pacientes com cardiopatia dilatada isquêmica ou não isquêmica reduziu os níveis plasmáticos de TNF- α e IL-6, repercutindo em melhoras funcionais significativas (Kurum et al., 2007).

A análise da relação pressão-volume mostrou dilatação ventricular excessiva nos animais vinte e oito dias após o infarto, evidenciado pelo desvio da curva para a direita. Essa dilatação está relacionada a expansão ventricular devido a extensa

área do infarto, estando associada a um pior prognóstico (Norris et al., 1992; Nijland et al., 2002). Fletcher et al. (1985) mostraram a relação entre a extensão do infarto e a dilatação ventricular esquerda em ratos. Além disso, a dilatação ocorre de forma progressiva, sendo iniciada nos primeiros dias seguidos ao infarto (Moro et al., 2007). Em nosso trabalho, o tratamento com carvedilol reduziu parcialmente a dilatação ventricular. Redução semelhante na dilatação foi observada por Sun et al. (2005) avaliando diferentes doses de carvedilol após o infarto em ratos. Os autores observaram pelo ecocardiograma seis semanas após o infarto que tanto a dose considerada baixa (2 mg/kg/dia) quanto a dose considerada alta (30 mg/kg/dia) reduziram parcialmente o diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo. Observações feitas por Yang et al. (2003) mostram que a redução do volume ventricular esquerdo avaliado quatro semanas após o infarto em ratos foi proporcional à dose de carvedilol usada, sendo melhores os resultados com doses maiores.

Porém, semelhante ao observado em nosso estudo e por outros autores (Yang et al., 2003; Sun et al., 2005), a redução da dilatação causada pelo carvedilol não ocorreu por alterações na área de infarto, já que não foram observadas diferenças entre os grupos em relação a extensão do infarto nem correlação entre a extensão do infarto e a dilatação ventricular. Esses resultados corroboram estudos prévios realizados em cães e em ratos mostrando que a expansão e dilatação ventricular ocorrem a partir de certa extensão do infarto (17% em ratos, segundo Hochman & Bulkley, 1982) sendo influenciado por variações na extensão do infarto (Fletcher et al., 1981; Pfeffer et al., 1979). Uma explicação para não haver correlação entre a dilatação do ventrículo esquerdo em nosso estudo pode estar relacionada a grande extensão do infarto utilizada em nosso estudo. Como pôde ser observado, a extensão do infarto ocupa em média 50% do ventrículo esquerdo. Para este valor de infarto, a dilatação estaria presente em todos os animais (Fletcher et al., 1981; Hochman & Bulkley, 1982; Pfeffer et al., 1985). Assim, outros efeitos mediados pelo carvedilol podem ser responsáveis por essa redução na dilatação ventricular. Como já mostrado anteriormente, o carvedilol apresenta um importante efeito sobre a apoptose. Palojoki et al. (2001) mostraram que a apoptose na área remanescente ao infarto está associada a deterioração da função ventricular e desenvolvimento da

insuficiência cardíaca. Além disso, aumento da taxa de apoptose na área remanescente ao infarto está diretamente associada ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca após o infarto do miocárdio em ovelhas (Jiang et al., 2003). Assim, um possível efeito antiapoptótico relacionado diretamente (efeito sobre menor gasto metabólico, estabilização e preservação da função mitocondrial, redução da hiperatividade adrenérgica para o coração) ou indiretamente (menor estresse hemodinâmico) ao bloqueio β -adrenérgico poderia contribuir na explicação desses resultados.

Além disso, Yamagishi et al. (1993) mostraram a participação da Ang II agindo pelo seu receptor AT_1 levando a dilatação ventricular após o infarto. Descrições similares foram feitas por Nishikimi et al. (1995) mostrando a participação do sistema renina-angiotensina na dilatação ventricular e na progressão para a insuficiência cardíaca após o infarto em ratos. Os receptores para Ang II são expressos precocemente à oclusão da artéria coronária (Sun & Weber, 1994). A expressão gênica para o receptor AT_1 está significativamente maior apenas 24 horas após o infarto. Já na região não infartada, esse aumento foi detectado apenas uma semana após o infarto (Nio et al., 1995). Além disso, camundongos com superexpressão cardíaca de Ang II apresentam grande dilatação ventricular após o infarto (Xu et al., 2007). Nós observamos no presente estudo um aumento significativo na expressão protéica do receptor AT_1 no ventrículo esquerdo no terceiro dia seguido ao infarto, aumento que persistiu ao longo das 4 semanas avaliadas. Importante ressaltar que o tratamento com carvedilol impediu esse aumento na expressão protéica do receptor AT_1 no ventrículo esquerdo, podendo esse efeito contribuir para a redução observada na dilatação ventricular nos animais tratados com carvedilol.

A dilatação ventricular e a intolerância ao exercício são preditores clássicos de morbidade e mortalidade cardiovascular, sendo freqüentemente utilizados para avaliar a eficácia de determinadas intervenções (Weber et al., 1984; Riegger et al., 1999; Kostuk et al., 1973; Pfeffer & Pfeffer, 1987). A tolerância ao exercício é um parâmetro de avaliação física global, pois está relacionada às atividades laborais do dia a dia, ajudando na determinação da severidade dos sintomas da insuficiência cardíaca. Em nosso estudo, este parâmetro foi de fundamental importância pois nos mostrou um parâmetro funcional sob estresse e sem o efeito do anestésico.

Observamos que os animais infartados apresentam tolerância reduzida ao esforço no teste de esteira. Essa redução da capacidade funcional sob esforço corrobora os achados hemodinâmicos que mostraram função cardíaca debilitada. Foi observado por Trueblood et al. (2005) que os animais infartados apresentam reduzida capacidade aeróbica. Os autores mostraram que a capacidade aeróbica é progressivamente deteriorada após o infarto, sendo significativa dezesseis semanas após o infarto. Esse comprometimento progressivo foi também observado após o infarto em ratos, mostrando redução da tolerância ao esforço físico na sexta semana após a cirurgia (Jain et al., 2001). Nós observamos grande deterioração da função cardíaca e redução da tolerância ao exercício 4 semanas após o infarto. Porém, essa intolerância ao exercício foi parcialmente restaurada nos animais que receberam tratamento com carvedilol. Esse aumento foi bastante significativo, incrementando em aproximadamente 45% o tempo despendido no teste até a exaustão. Esses resultados assemelham-se aos descritos em estudos clínicos, em que o tratamento com carvedilol em pacientes com insuficiência cardíaca crônica aumenta a distância percorrida no teste de 6 minutos (Castro et al., 2004; Castro et al., 2005). Corroborando esses dados, Macdonald et al. (1999) mostraram que pacientes com disfunção ventricular severa (classe funcional IV) selecionados para receber carvedilol tiveram importante incremento da distância percorrida no teste de 6 minutos, três meses após o início do tratamento. Por outro lado, pacientes com insuficiência cardíaca devido ao infarto do miocárdio randomizados para receber placebo ou carvedilol por um ano não apresentaram melhora na tolerância ao exercício, apesar de melhora nos parâmetros funcionais como a fração de ejeção e os volumes sistólico e diastólico (Australia/New Zeland Heart Failure Research Collaborative Group, 1997). Porém, uma meta-análise incluindo 2625 pacientes mostrou que o tratamento com β -bloqueadores aumenta de forma significativa a tolerância ao esforço (Abdulla et al., 2006).

Podemos observar neste tópico que o tratamento com carvedilol melhorou parâmetros funcionais e estruturais importantes, o que contribui para a melhora evidenciada no teste de tolerância ao esforço. Como discutiremos adiante, esses efeitos impactam diretamente na sobrevida dos animais após o infarto.

5.5. Avaliações Morfológicas

Precocemente a oclusão da artéria coronária, o colágeno é intensamente degradado na região infartada. Esse efeito é mediado pelas células inflamatórias infiltradas no miocárdio infartado (Fishbein et al., 1978; Cannon et al., 1983; Vanhoutte et al., 2006). Com a progressão das alterações cardíacas, a deposição de colágeno no miocárdio remanescente ao infarto aumenta (Leite et al., 1995; Milanez et al., 1997; Mill et al., 2003). Observamos em nosso estudo, semelhante ao descrito por outros autores, um aumento bastante significativo no conteúdo de colágeno no miocárdio remanescente ao infarto. Esse excesso de colágeno contribui para o déficit da contratilidade e do relaxamento miocárdico observado aqui, além de favorecer a disfunção diastólica e a progressão para a insuficiência cardíaca. A Ang II é um fator de grande importância nesse processo de deposição excessiva de colágeno no tecido remanescente ao infarto (Sun et al., 1995; Wilke et al., 1996). A Ang II agindo pelo seu receptor AT_1 em fibroblastos aumenta a produção de colágeno após o infarto (Ju et al., 1997; El-Sabban et al., 2000; Zornoff et al., 2000). Esses resultados corroboram as descrições feitas por Busatto et al. (1997) mostrando aumento da atividade da ECA no miocárdio remanescente ao infarto. Dados semelhantes foram relatados por vários autores (Schieffer et al., 1994; Mill et al., 1997; Resende et al., 2006). Sun et al. (1996) evidenciaram o aumento na expressão da ECA em miofibroblastos três dias após o infarto, aumentando a deposição de colágeno. Nossos resultados estão de acordo com as descrições da literatura, mostrando aumento da atividade da ECA no ventrículo esquerdo três dias após a oclusão da artéria coronária. Além disso, aumento significativo na concentração de Ang II no ventrículo esquerdo é observado após o infarto (Resende et al., 2006). Além disso, ocorre aumento na expressão do receptor AT_1 precocemente à oclusão da coronária (Sun & Weber, 1996). A estimulação desses receptores pela Ang II induz diversos efeitos no coração, dentre eles a proliferação de colágeno (Crabos et al., 1994; Villarreal et al., 1993; Iwami et al., 1996). Ju et al. (1997) mostraram aumento progressivo do colágeno na área viável após o infarto, sendo revertido após bloqueio dos receptores AT_1 , evidenciando os efeitos pró-fibróticos mediados pela Ang II. O aumento na expressão do receptor AT_1 e na atividade da ECA observados em nosso

estudo a partir do terceiro dia após o infarto podem explicar o aumento na deposição de colágeno. Nossos resultados mostraram que o carvedilol impediu o aumento da expressão protéica do receptor AT_1 precocemente. Além disso, observamos menor atividade da ECA no ventrículo esquerdo. Esses resultados podem explicar a menor deposição de colágeno observado no miocárdio remanescente dos animais tratados com carvedilol.

A redução na deposição de colágeno promovida pelo carvedilol corrobora dados obtidos quatro semanas após o infarto do miocárdio em ratos, mostrando que a deposição de colágeno no tecido remanescente foi reduzida pelo tratamento com carvedilol (10 mg/kg/d) (Li et al., 2006). Resultados semelhantes foram observados por Sia et al. (2002) mostrando que o tratamento com carvedilol (20 mg/kg/d) por quatro semanas seguidas ao infarto do miocárdio em ratos reduz o colágeno. A comparação entre diferentes β -bloqueadores em relação a redução na deposição de colágeno após o infarto em ratos mostrou que o carvedilol foi efetivo em reduzir a fibrose no ventrículo esquerdo, diferente do efeito observado com o metoprolol (Wei et al., 2000).

Os efeitos observados em relação à fibrose miocárdica não podem ser atribuídos a possíveis benéficos da estimulação do receptor AT_2 . Além de um aumento bastante significativo da expressão do receptor AT_2 , não observamos diferenças significativas na expressão desse receptor associado ao tratamento com carvedilol.

Alguns estudos clínicos têm mostrado que β -bloqueadores reduzem a ativação plasmática do sistema renina-angiotensina em pacientes com insuficiência cardíaca. Nós não observamos aqui alterações na atividade da ECA plasmática. Esses dados divergem dos resultados obtidos por outros autores que mostraram aumento significativo na atividade da ECA plasmática após o infarto em ratos (Busatto et al., 1997; Resende et al., 2006)

A redução do colágeno observada com o tratamento com carvedilol pode ser explicada por alguns mecanismos. O primeiro, já é sabido que a sobrecarga adrenérgica após o infarto aumenta a deposição de colágeno no miocárdio (Bos et al., 2005; Bonnefont-Rousselot et al., 2002). Assim, seu efeito sobre o bloqueio β -adrenérgicos poderia participar dessa resposta. Além disso, a melhora funcional

observada precocemente pelo tratamento com carvedilol poderia reduzir a fibrose miocárdica pela redução do estresse hemodinâmico.

A hipertrofia ventricular é uma resposta adaptativa que ocorre após o infarto com o objetivo de compensar a sobrecarga hemodinâmica, atenuar a dilatação ventricular e estabilizar a função contrátil. Quando o coração enfrenta uma sobrecarga hemodinâmica, alguns mecanismos compensatórios são utilizados, dentre eles o uso do mecanismo de Frank-Starling para aumentar a formação de pontes cruzadas, o aumento da massa ventricular para compensar a carga adicional, e a ativação neurohumoral. O mecanismo de Frank-Starling é limitado nessas condições de perda excessiva de tecido contrátil (Mill et al., 1990). A ativação neurohumoral, como já descrito anteriormente, exerce efeitos deletérios diante da ativação crônica. Assim, inicialmente o aumento na massa ventricular desempenha um papel crítico na compensação hemodinâmica após o infarto.

Vinte e oito dias após o infarto, os animais apresentaram grande aumento da área de secção transversal do miócito, porém sem efeito significativo associado ao tratamento com carvedilol. Foi observado em ratos hipertensos que o tratamento com carvedilol reduz a pressão arterial e a hipertrofia cardíaca (Jovanovic et al., 2009). Em ratos infartados, Yang et al. (2002) mostraram que o carvedilol reduziu a massa ventricular. Dados semelhantes foram observados por Yang et al. (2003) mostrando que o carvedilol exerce efeito antihipertrófico dependente da dose. Interessante, esse efeito antihipertrofico não foi observado com o metoprolol. Por outro lado, Sia et al. (2002) observaram ligeiro aumento da hipertrofia ventricular nos animais com infartos extensos tratados com carvedilol. Os autores justificaram esse resultado como sendo uma reação benéfica na tentativa de compensar a dilatação ventricular excessiva.

A ativação neurohumoral (sistema renina-angiotensina-aldosterona e a hiperatividade simpática) tem grande ação hipertrofia cardíaca. Isso pôde ser evidenciado quando a superexpressão de Ang II no coração induziu hipertrofia cardíaca independente de outros efeitos sistêmicos relacionados (Xu et al., 2007). Além disso, a superexpressão do receptor AT_1 em miócitos induz hipertrofia e remodelamento ventricular em camundongos (Paradis et al., 2000). Importante

ressaltar que esses efeitos acontecem de forma independente dos efeitos sistêmicos associados aos componentes do sistema (Ainscough et al., 2009). No presente estudo observamos grande aumento na área de secção transversal do miócito cardíaco indicando hipertrofia. Essa hipertrofia pode em parte ser explicada pela expressão aumentada do receptor AT_1 e aumento da atividade da ECA no ventrículo esquerdo. Porém, outros fatores devem estar envolvidos no desenvolvimento da hipertrofia. Isso porque não observamos efeitos do carvedilol na regressão da hipertrofia, mesmo havendo redução na expressão do receptor AT_1 e da atividade da ECA no ventrículo esquerdo.

A expressão do receptor AT_2 foi aumentada após o infarto. Porém, o tratamento com carvedilol não alterou a expressão desse receptor. Esse receptor é largamente expresso na fase de desenvolvimento fetal, reduzindo rapidamente após o nascimento. Seus efeitos ainda não estão muito esclarecidos, mas estudos têm demonstrado ações vasodilatadora, antiapoptótica e antiproliferativa (Steckelings et al., 2010). Em trabalho realizado por Yan et al. (2003), os autores observaram que a superexpressão do receptor AT_2 restrita ao coração leva à hipertrofia ventricular, progredindo para a dilatação e insuficiência cardíaca. Esses efeitos podem ajudar na explicação da hipertrofia observada.

Alguns hormônios têm forte ação hipertrófica no miocárdio lesado. Um deles é a aldosterona, que exibe forte efeito hipertrófico sobre o miocárdio. Okoshi et al. (2004) mostraram em cardiomiócitos em cultura que a aldosterona induz hipertrofia. Os níveis de aldosterona estão elevados após o infarto, assim como a expressão do seu receptor no ventrículo esquerdo. A endotelina é outro fator que tem os níveis aumentados precocemente após o infarto e na insuficiência cardíaca (Stewart et al., 1991). . Diante disso, podemos esperar que outros fatores como os citados acima possam responder, em parte, por esse efeito hipertrófico observado nos dois grupos infartados.

Outro mecanismo envolvido na hipertrofia ventricular é a tensão na parede ventricular causada pela dilatação excessiva da câmara ventricular. De acordo com a lei de Laplace, a carga no miocárdio é dada pela razão (pressão x raio)/(2 x espessura). Assim, aumento na pressão pode ser compensado por aumento na

espessura da parede ventricular. Litwin et al. (1991) mostraram que a indução farmacológica de hipertrofia cardíaca após o infarto em ratos compensa as alterações hemodinâmicas associadas à dilatação da câmara. Diante disso, é possível que frente a grande dilatação observada após o infarto, esse mecanismo hipertrófico seja algo compensatório.

5.6. Mortalidade após o Infarto do Miocárdio

No primeiro protocolo, avaliamos os efeitos do tratamento imediato com carvedilol (2 horas após o infarto) sobre a mortalidade dentro das primeiras vinte e quatro horas seguidas ao infarto. Essa mortalidade aguda tem como causa predominante as arritmias ventriculares (Optiz et al., 1995; Leenen & Yuan, 2000). Apesar da diferença entre os grupos não ter alcançado diferença estatisticamente significativa, nota-se uma grande tendência à redução da mortalidade associada ao tratamento com carvedilol, que não foi significativa provavelmente pelo número reduzido de animais utilizados na análise e pelo pequeno número de desfechos. Isto corrobora os relatos disponíveis na literatura em que o tratamento com β -bloqueadores na fase aguda do infarto reduz a incidência de arritmias ventriculares letais e portanto, impacta sobre a mortalidade (Wislow et al., 1989; Paletta et al., 1989). Esse protocolo nos orientou em optar por iniciar o tratamento após o período crítico de desenvolvimento das arritmias.

A mortalidade é um desfecho importante a ser avaliado quando uma nova terapia é experimentada no tratamento de doenças crônicas. É de se esperar que qualquer intervenção que melhore a função cardíaca após o infarto tenha algum impacto na sobrevida a longo-prazo. Em estudos experimentais, para que se possa avaliar a mortalidade é necessário um número bastante significativo de indivíduos alcançando o desfecho. No presente estudo, a avaliação da sobrevida dentro dos 28 dias após o infarto pode ser considerada segura diante do elevado número de animais que utilizamos nos diversos protocolos, assim como o número significativo de animais que morreram ao longo do período de seguimento.

Uma série de fatores pode contribuir para a mortalidade após o infarto. Um deles sem dúvidas é o grau de comprometimento da função cardíaca nos animais infartados. Como descrito anteriormente, esse é um fator importante uma vez que a função cardíaca está debilitada apenas três dias após o infarto. Outro fator que exerce importante impacto na mortalidade é a extensão da lesão causada pelo infarto. Como vimos, a extensão do infarto nesse estudo foi em média 50%. Isso contribui não só para a redução da função cardíaca, mas também no aumento do

risco de ruptura do ventrículo esquerdo. Pfeffer et al. (1985) mostraram que a mortalidade está diretamente associada à extensão do infarto, sendo bem evidente em infartos de extensão superior a 40% do ventrículo esquerdo. Esses fatores ajudam a explicar a mortalidade observada ao longo do estudo. Além disso, a mortalidade encontrada em nosso estudo é similar à descrita por outros autores (Pfeffer et al., 1985; Sia et al., 2002; Betge et al., 2007; Wei et al., 2011).

Na clínica, vários estudos testando a eficácia do carvedilol na redução da mortalidade em pacientes com insuficiência cardíaca foram interrompidos diante da redução importante da mortalidade (CIBIS-II Investigators, 1999; Packer et al., 1996; Packer et al., 2001). O tratamento com carvedilol imediatamente após o infarto do miocárdio em pacientes apresenta redução significativa da mortalidade tanto a curto prazo (30 dias) quanto a longo prazo (1 ano) (Fonarow et al., 2007; The CAPRICORN Investigators, 2001). Nós observamos redução bastante expressiva na mortalidade nos animais tratados com carvedilol. Essa mortalidade foi significativa já no sétimo dia após o infarto. Alguns estudos disponíveis na literatura corroboram com nossos achados. Por exemplo, estudo realizado por Hu et al. (1998) mostrou que a administração de bisoprolol imediatamente após o infarto em ratos reduziu a mortalidade após 8 semanas de seguimento. No mesmo trabalho, o início do tratamento duas semanas após o infarto não obteve efeitos satisfatórios (Hu et al., 1998). Esse efeito evidencia a importância dos efeitos agudos dos β -bloqueadores impactando na mortalidade a curto prazo.

Semelhante ao observado no modelo de infarto do miocárdio, o tratamento com β -bloqueadores aumenta a sobrevivência em diversos outros modelos de disfunção cardíaca (Watanabe et al., 2001; Watanabe et al., 2003; Bartholomeu et al., 2008; Kobayashi et al., 2004; Watanabe et al., 2003). Porém, o carvedilol aumentou a mortalidade dentro dos três primeiros dias após a oclusão coronariana. A possível causa para esse efeito pode estar associada à redução excessiva da pressão arterial causada pelo carvedilol nesse estudo (Sia et al., 2002).

Não se pode atribuir a redução da mortalidade observada no grupo tratado com carvedilol a alterações na extensão do infarto, já que este parâmetro foi similar entre os grupos em todos os períodos avaliados. Porém, a melhora funcional associada

com preservação dos parâmetros estruturais observada nos animais tratados com carvedilol podem sim serem responsáveis pela redução na mortalidade. Fletcher et al. (1985) mostraram que a dilatação ventricular está associada a reduzida sobrevida após o infarto. Esse efeito sobre a mortalidade foi evidenciado também por Pfeffer & Pfeffer (1987) chamando a atenção para possíveis intervenções que impeçam ou retardem a progressão da dilatação ventricular após o infarto.

Outro fator de fundamental importância na determinação da mortalidade é a baixa tolerância ao esforço. Esse parâmetro reflete uma condição global do animal. Como já foi discutido anteriormente, os animais infartados mostraram redução importante da capacidade aeróbica, efeito que foi parcialmente revertido pelo carvedilol. Estudos mostram associação entre a tolerância ao esforço e a sobrevida e eventos cardiovasculares em pacientes após o infarto (Shaw et al., 2006; Valeur et al., 2007; Honold et al., 2008). Os animais tratados com carvedilol apresentaram função cardíaca preservada, menor dilatação ventricular e maior resistência ao esforço aeróbico.

A avaliação retrospectiva dos animais que morreram durante o protocolo mostrou que esses animais já apresentavam maior perda de peso corporal e menor ingestão de água e ração três dias após o infarto comparados aos demais animais infartados que sobreviveram aos 28 dias de acompanhamento. Esses dados estão de acordo com Faria et al. (2011), em que a perda de peso corporal e menor consumo de ração e água estão associados com maior deterioração da função cardíaca em ratas infartadas. Apesar da forte limitação em tirar conclusões desse pequeno grupo de animais avaliados, fica bastante evidente que os fatores associados à mortalidade estão precocemente ativos após o infarto. Isso reforça a idéia que as intervenções necessárias ao melhor prognóstico devem ser feitas ainda na fase aguda do infarto.

6. CONCLUSÃO

Concluimos com o presente estudo que o tratamento com carvedilol iniciado vinte e quatro horas após o infarto do miocárdio está relacionado a melhora hemodinâmica e estrutural, maior tolerância ao esforço físico, menor deposição de colágeno e maior sobrevida. Nossos resultados mostram que esses efeitos estão associados a alterações alcançadas em uma fase muito precoce do remodelamento ventricular. O presente estudo sinaliza para um possível efeito do carvedilol na redução da atividade do sistema renina-angiotensina no coração, contribuindo para atenuar os efeitos do remodelamento após o infarto em ratos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdulla J, Køber L, Christensen E, Torp-Pedersen C. Effect of beta-blocker therapy on functional status in patients with heart failure--a meta-analysis. *Eur J Heart Fail* 2006; 8: 522-531.

Adachi Y, Saito Y, Kishimoto I, Harada M, Kuwahara K, Takahashi N, Kawakami R, Nakanishi M, Nakagawa Y, Tanimoto K, Saitoh Y, Yasuno S, Usami S, Iwai M, Horiuchi M, Nakao K. Angiotensin II type 2 receptor deficiency exacerbates heart failure and reduces survival after acute myocardial infarction in mice. *Circulation* 2003; 107: 2406-2408.

Ahmed MS, Øie E, Vinge LE, Yndestad A, Øystein Andersen G, Andersson Y, Attramadal T, Attramadal H. Connective tissue growth factor--a novel mediator of angiotensin II-stimulated cardiac fibroblast activation in heart failure in rats. *J Mol Cell Cardiol* 2004; 36: 393-404.

Ainscough JFX, Drinkhill MJ, Sedo A, Turner NA, Brooke DA, Balmforth AJ, Ball SG. Angiotensin II type-1 receptor activation in the adult heart causes blood pressure-independent hypertrophy and cardiac dysfunction. *Cardiovasc Res* 2009; 81: 592-600.

Alfieri AB, Briceno L, Fragasso G, Spoladore R, Pallosi A, Bassanelli G, Montano C, Arioli F, Cuko A, Ruotolo G, Margonato A. Differential long-term effects of carvedilol on proinflammatory and antiinflammatory cytokines, asymmetric dimethylarginine, and left ventricular function in patients with heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 2008; 52: 49-54.

Ambrosioni E, Borghi C, Magnani B, for the Survival of Myocardial Infarction Long-Term Evaluation (SMILE) Study Investigators. The effect of the angiotensin-converting-enzyme inhibitor zofenopril on mortality and morbidity after anterior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1995; 332:80-85.

Antman EM, Anbe DT, Armstrong PW, Bates ER, Green LA, Hand M, Hochman JS, Krumholz HM, Kushner FG, Lamas GA, Mullany CJ, Ornato JP, Pearle DL, Sloan MA, Smith SC Jr, Alpert JS, Anderson JL, Faxon DP, Fuster V, Gibbons RJ, Gregoratos G, Halperin JL, Hiratzka LF, Hunt SA, Jacobs AK; American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 1999 Guidelines for the Management of Patients With Acute Myocardial Infarction). ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction--executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 1999 Guidelines for the Management of Patients With Acute Myocardial Infarction). *Circulation* 2004; 110: 588-636.

Apple KA, Yarbrough WM, Mukherjee R, Deschamps AM, Escobar PG, Mingoia JT, Sample JA, Hendrick JW, Dowdy KB, McLean JE, Stroud RE, O'Neill TP, Spinale FG. Selective targeting of matrix metalloproteinase inhibition in post-infarction myocardial remodeling. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 47: 228-235.

Araujo IG, Trindade DC, Mecawi AS, Sonoda-Côrtes R, Werneck-de-Castro JP, Costa-E-Sousa RH, Reis LC, Olivares EL. Inhibition of brain renin-angiotensin system improves diastolic cardiac function following myocardial infarction in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2009; 36: 803-809.

Australia/New Zealand Heart Failure Research Collaborative Group. Randomized, placebo-controlled trial of Carvedilol in patients with congestive heart failure due to ischaemic heart disease. *Lancet* 1997; 349: 375-380.

Baicu CF, Stroud JD, Livesay VA, Hapke E, Holder J, Spinale FG, Zile MR. Changes in extracellular collagen matrix alter myocardial systolic performance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 284: 122-132.

Balcon R, Jewitt DE, Davies JP, Oram S. A controlled Trial of propranolol in acute myocardial infarction. *Lancet* 1966; 2: 918-920.

Baldi A, Abbate A, Bussani R, Patti G, Melfi R, Angelini A, Dobrina A, Rossiello R, Silvestri F, Baldi F, Di Sciascio G. Apoptosis and post-infarction left ventricular remodeling. *J Mol Cell Cardiol* 2002; 34: 165-174.

Baldo MP, Davel AP, Nicoletti-Carvalho JE, Bordin S, Rossoni LV, Mill JG. Granulocyte colony-stimulating factor reduces mortality by suppressing ventricular arrhythmias in acute phase of myocardial infarction in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2008; 52: 375-380.

Baldo MP, Zaniqueli D, Forechi L, Machado RC, Rodrigues SL, Mill JG. Effects of spironolactone in spontaneously hypertensive adult rats subjected to high salt intake. *Clinics* 2011; 66: 477-482.

Balke CW, Shorofsky SR. Alterations in calcium handling in cardiac hypertrophy and heart failure. *Cardiovasc Rev* 1998; 37: 290-299.

Balsam LB, Kofidis T, Robbins RC. Caspase-3 inhibition preserves myocardial geometry and long-term function after infarction. *J Surg Res* 2005; 124: 194-200.

Barlucchi L, Leri A, Dostal DE, Fiordaliso F, Tada H, Hintze TH, Kajstura J, Nadal-Ginard B, Anversa P. Canine ventricular myocytes possess a renin-angiotensin system that is upregulated with heart failure. *Circ Res* 2001; 88: 298-304.

Bartholomeu JB, Vanzelli AS, Rolim NP, Ferreira JC, Bechara LR, Tanaka LY, Rosa KT, Alves MM, Medeiros A, Mattos KC, Coelho MA, Irigoyen MC, Krieger EM, Krieger JE, Negrão CE, Ramires PR, Guatimosim S, Brum PC. Intracellular mechanisms of specific beta-adrenoceptor antagonists involved in improved cardiac function and survival in a genetic model of heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 2008; 45: 240-249.

Bay G, Lund-Larsen P, Lorentsen E, Sivertssen E. Haemodynamic effects of propranolol (Inderal) in acute myocardial infarction. *Br Med J* 1967; 1: 141-143.

Betge S, Lutz K, Roskos M, Figulla HR. Oral treatment with probucol in a pharmacological dose has no beneficial effects on mortality in chronic ischemic heart failure after large myocardial infarction in rats. *Eur J Pharmacol* 2007; 558: 119-127.

Bocchi EA, Marcondes-Braga FG, Ayub-Ferreira SM, Rohde LE, Oliveira WA, Almeida DR, et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. III Diretriz Brasileira de Insuficiência Cardíaca Crônica. *Arq Bras Cardiol* 2009; 93: 1-71.

Bonnefont-Rousselot D, Mahmoudi A, Mougenot N, Varoquaux O, Le Nahour G, Fouret P, Lechat P. Catecholamine effects on cardiac remodelling, oxidative stress and fibrosis in experimental heart failure. *Redox Rep* 2002; 7: 145-151.

Bos R, Mougenot N, Findji L, Médiani O, Vanhoutte PM, Lechat P. Inhibition of catecholamine-induced cardiac fibrosis by an aldosterone antagonist. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 45: 8-13.

Bounhoure JP, Kayanakis JG, Fauvel JM, Puel J. Beneficial effects of captopril in left ventricular failure in patients with myocardial infarction. *Br J Clin Pharmacol* 1982; 14: 187-191.

Briggs JF. The treatment of congestive heart failure. *Chest* 1957; 31: 599-600.

Bristow MR, Gilbert EM, Abraham WT, Adams KF, Fowler MB, Hershberger RE, Kubo SH, NArachara KA, Ingersoll H, Krueger S, Young S, Shusterman N, for the MOCHA Investigators. Carvedilol produces dose-related improvements in left ventricular function and survival in subjects with chronic heart failure. *Circulation* 1996; 94: 2807-2816.

Brivet F, Delfraissy JF, Giudicelli JF, Richer C, Legrand A, Dormont J. Immediate effects of captopril in acute left ventricular failure secondary to myocardial infarction. *Eur J Clin Invest* 1981; 11: 369-373.

Brower GL, Gardner JD, Forman MF, Murray DB, Voloshenyuk T, Levick SP, Janicki JS. The relationship between myocardial extracellular matrix remodeling and ventricular function. *Eur J Car Thor Surg* 2006; 30: 604-610.

Bruce JM. A Clinical Lecture ON THE ACTION AND USES OF DIGITALIS IN CARDIAC FAILURE: Delivered at the Hospital for Consumption and Diseases of the Chest, Brompton. *Br Med J* 1906; 1: 8-11.

Brum PC, Rolim NP, Bacurau AV, Medeiros A. Neurohumoral activation in heart failure: the role of adrenergic receptors. *An Acad Bras Cienc* 2006; 78: 485-503.

Bujak M, Frangogiannis NG. The role of TGF- β signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling. *Cardiovasc Res* 2007; 74: 184-195.

Busatto VC, Cicilini MA, Mill JG. Increased angiotensina-converting enzyme activity in the left ventricle after infarction. *Braz J Med Biol Res* 1997; 30: 679-687.

Cannon RO 3rd, Butany JW, McManus BM, Speir E, Kravitz AB, Bolli R, Ferrans VJ. Early degradation of collagen after acute myocardial infarction in the rat. *Am J Cardiol* 1983; 52: 390-395.

Castro P, Pérez O, Greig D, Díaz-Araya G, Moraga F, Chiong M, Troncoso R, Padilla I, Vukasovic JL, Corbalán R, Lavandero S. Effects of carvedilol on functional capacity, left ventricular function, catecholamines, and oxidative stress in patients with chronic heart failure. *Rev Esp Cardiol* 2004; 57: 1053-1058.

Castro P, Vukasovic JL, Chiong M, Díaz-Araya G, Alcaino H, Copaja M, Valenzuela R, Greig D, Pérez O, Corbalan R, Lavandero S. Effects of carvedilol on oxidative stress and chronotropic response to exercise in patients with chronic heart failure. *Eur J Heart Fail* 2005; 7: 1033-1039.

Chandrashekhhar Y, Sen S, Anway R, Shuros A, Anand I. Long-term caspase inhibition ameliorates apoptosis, reduces myocardial troponin-I cleavage, protects left

ventricular function, and attenuates remodeling in rats with myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 295-301.

Cheng W, Kajstura J, Nitahara JA, Li B, Reiss K, Liu Y, Clark WA, Krajewski S, Reed JC, Olivetti G, Anversa P. Programmed myocyte cell death affects the viable myocardium after infarction in rats. *Exp Cell Res* 1996; 226: 316-327.

CIBIS Investigators and Committees. A randomized trial of β -blockade in heart failure. The cardiac insufficiency bisoprolol study (CIBIS). *Circulation* 1994; 90: 1765-1773).

CIBIS-II Investigators and Committees. The cardiac insufficiency bisoprolol study II (CIBIS-II). A randomized trial. *Lancet* 1999; 353: 9-13.

Cigola E, Kajstura J, Li B, Meggs LG, Anversa P. Angiotensin II activates programmed myocyte cell death in vitro. *Exp Cell Res* 1997; 231: 363-371.

Cleutjens JPM, Verluyten MJA, Smits JFM, Daemen MJAP. Collagen remodeling after myocardial infarction in the rat heart. *Am J Pathol* 1995; 147 (2): 325-338.

Crabos M, Roth M, Hahn AWA, Erne P. Characterization of angiotensin II receptors in cultured adult rat cardiac fibroblasts. *J Clin Invest* 1994; 93: 2372-2378.

Creemers EE, Cleutjens JP, Smits JF, Daemen MJ. Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction: a new approach to prevent heart failure? *Circ Res* 2001; 89: 201-210.

Davies RO. Beta-blockers in the management of myocardial ischemia. *Adv Cardiol* 1974; 13: 315-329.

Dean RG, Balding LC, Candido R, Burns WC, Cao Z, Twigg SM, Burrell LM. Connective tissue growth factor and cardiac fibrosis after myocardial infarction. *J Histochem Cytochem* 2005; 53: 1245-1256.

DeFelice A, Frering R, Horan P. Time course of hemodynamic changes in rats with healed severe myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1989; 257: 289-296.

Deng C, Rao F, Wu S, Kuang S, Liu X, Zhou Z, Shan Z, Lin Q, Qian W, Yang M, Geng Q, Zhang Y, Yu X, Lin S. Pharmacological effects of carvedilol on T-type calcium current in murine HL-1 cells. *Eur J Pharmacol* 2009; 621: 19-25.

Deten A, Hölzl A, Leicht M, Barth W, Zimmer HG. Changes in extracellular matrix and in transforming growth factor beta isoforms after coronary artery ligation in rats. *J Mol Cell Cardiol* 2001; 33: 1191-1207.

Deten A, Marx G, Briest W, Christian Volz H, Zimmer HG. Heart function and molecular biological parameters are comparable in young adult and aged rats after chronic myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2005; 66: 364-373.

Deten A, Volz HC, Briest W, Zimmer HG. Cardiac cytokine expression is upregulated in the acute phase after myocardial infarction. Experimental studies in rats. *Cardiovasc Res* 2002; 55: 329-340.

Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, McMurray JJ, Ponikowski P, Poole-Wilson PA, Strömberg A, van Veldhuisen DJ, Atar D, Hoes AW, Keren A, Mebazaa A, Nieminen M, Priori SG, Swedberg K, ESC Committee for Practice Guidelines (CPG). ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). *Eur J Heart Fail* 2008;10:933-989.

Dickstein K, Kjekshtus J, and the OPTIMAAL Steering Committee of the OPTIMAAL Study Group. Effects of losartan and captopril on mortality and morbidity in high-risk patients after acute myocardial infarction: the OPTIMAAL randomized trial. Optimal

Trial in Myocardial Infarction with Angiotensin II Antagonist Losartan. *Lancet* 2002; 360: 752-760.

Dobre D, van Veldhuisen DJ, Goulder MA, Krum H, Willenheimer R. Clinical effects of initial 6 months monotherapy with bisoprolol versus enalapril in the treatment of patients with mild to moderate chronic heart failure. Data from the CIBIS III Trial. *Cardiovasc Drugs Ther* 2008; 22: 399-405.

Dodek A. Digitalis use in acute myocardial infarction: current concepts. *Can Med Assoc J* 1974; 111: 561-564.

Dostal DE, Rothblum KN, Chernin MI, Cooper GR, Baker KM. Intracardiac detection of angiotensinogen and renin: a localized renin-angiotensin system in neonatal rat heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1992; 263: 838-850.

Du XJ, Cox HS, Dart AM, Esler MD. Sympathetic activation triggers ventricular arrhythmias in rat heart with chronic infarction and failure. *Cardiovasc Res* 1999; 43: 919-929.

Dzau VJ. Cardiac renin-angiotensin system. Molecular and functional aspects. *Am J Med* 1988; 84: 22-27.

Eaton LW, Bulkley BH. Expansion of acute myocardial infarction: its relationship to infarct morphology in a canine model. *Circ Res* 1981; 49: 80-88.

El-Armouche A, Eschenhagen T. β -adrenergic stimulation and myocardial function in the failing heart. *Heart Fail Rev* 2009; 14: 225-241.

El-Sabban ME, Hassan KA, Birbari AE, Bitar KM, Bikhazi AB. Angiotensin II binding and extracellular matrix remodelling in a rat model of myocardial infarction. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2000; 1: 369-378.

Erickson B, Sperber K, Frishman WH. Toll-like receptors: new therapeutic targets for the treatment of atherosclerosis, acute coronary syndrome, and myocardial failure. *Cardiol Rev* 2008; 16: 273-279.

Evans W. Early diagnosis and treatment of heart failure. *Br Med J* 1937; 1: 1145-1151.

Fang J, Alderman MH, Keenan NL, Ayala C. Acute myocardial infarction hospitalization in the United States, 1979 to 2005. *Am J Med* 2010; 123: 259-266.

Fang JC, Angiotensin-converting enzyme inhibitors or β -blockers in heart failure. Does it matter who goes first? *Circulation* 2005; 112: 2380-2382.

Faria TO, Baldo MP, Simões MR, Pereira RB, Mill JG, Vassallo DV, Stefanon I. Body weight loss after myocardial infarction in rats as a marker of early heart failure development. *Arch Med Res* 2011; *in press*.

Ferreira JC, Bacurau AV, Evangelista FS, Coelho MA, Oliveira EM, Casarini DE, Krieger JE, Brum PC. The role of local and systemic renin angiotensin system activation in a genetic model of sympathetic hyperactivity-induced heart failure in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 294: 26-32.

Fishbein MC, Maclean MB, Maroko PR. Experimental myocardial infarction in the rat. Qualitative and quantitative changes during pathologic evolution. *Am J Pathol* 1978; 90: 57-70.

Fitzsimons JT. Angiotensin, thirst, and sodium appetite. *Physiol Rev* 1998; 78: 583-686.

Flather MD, Shibata MC, Coats AJ, Van Veldhuisen DJ, Parkhomenko A, Borbola J, Cohen-Solal A, Dumitrascu D, Ferrari R, Lechat P, Soler-Soler J, Tavazzi L, Spinarova L, Toman J, Böhm M, Anker SD, Thompson SG, Poole-Wilson PA; SENIORS Investigators. Randomized trial to determine the effect of nebivolol on

mortality and cardiovascular hospital admission in elderly patients with heart failure (SENIORS). *Eur Heart J* 2005; 26: 215-225.

Fletcher E, Brennan CF. Digitalis and intractable heart failure. *Br Heart J* 1958; 20: 204-214.

Fletcher PJ, Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Left ventricular diastolic pressure-volume relations in rats with healed myocardial infarction. Effects on systolic function. *Circ Res* 1981; 49: 618-626.

Fonarow GC, Lukas MA, Robertson M, Colucci WS, Dargie HJ. Effects of Carvedilol early after myocardial infarction: analysis of the first 30 days in carvedilol post-infarct survival control in left ventricular dysfunction (CAPRICORN). *Am Heart J* 2007; 154: 637-644.

Fonarow GC, Lukas MA, Robertson M, Colucci WS, Dargie HJ. Effects of carvedilol early after myocardial infarction: analysis of the first 30 days in carvedilol post-infarct survival control in left ventricular dysfunction (CAPRICORN). *Am Heart J* 2007; 154: 637-644.

Foy SG, Crozier IG, Turner JG, Richards AM, Frampton CM, Nicholls MG, Ikram H. Comparison of enalapril versus captopril on left ventricular function and survival three months after acute myocardial infarction (the "PRACTICAL" study). *Am J Cardiol* 1994; 73: 1180-1186.

Fraccarollo D, Galuppo P, Schraut S, Kneitz S, van Rooijen N, Ertl G, Bauersachs J. Immediate mineralocorticoid receptor blockade improves myocardial infarct healing by modulation of the inflammatory response. *Hypertension* 2008; 51: 905-914.

Francis GS, Benedict C, Johnstone DE, Kirlin PC, Nicklas J, Liang CS, Kubo SH, Rudin-Toretsky E, Yusuf S. Comparison of neuroendocrine activation in patients with left ventricular dysfunction with and without congestive heart failure. A substudy of

the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *Circulation* 1990; 82: 1724-1729.

Frangogiannis NG, Entman ML. Chemokines in myocardial ischemia. *Trends Cardiovasc Med* 2005; 15: 163-169.

Frangogiannis NG. The immune system and cardiac repair. *Pharmacol Res* 2008; 58: 88-111.

Frangogiannis NG. The mechanistic basis of infarct healing. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8: 1907-1939.

Freemantle N, Cleland J, Young P, Mason J, Harrison J. β Blockade after myocardial infarction: systematic review and meta regression analysis. *BMJ* 1999; 318: 1730-1737.

Fung JW, Yu CM, Yip G, Chan S, Yandle TG, Richards AM, Nicholls MG, Sanderson JE. Effect of beta blockade (carvedilol or metoprolol) on activation of the renin-angiotensin-aldosterone system and natriuretic peptides in chronic heart failure. *Am J Cardiol* 2003; 92: 406-410.

Ganguly PK, Dhalla KS, Shao Q, Beamish RE, Dhalla NS. Differential changes in sympathetic activity in left and right ventricles in congestive heart failure after myocardial infarction. *Am Heart J* 1997; 133: 340-345.

Gauí EN, Klein CH, Oliveira GMM. Mortality due to heart failure: extended analysis and temporal trend in three states of Brazil. *Arq Bras Cardiol* 2010; 94: 52-58.

Gauthier C, Leblais V, Kobzik L, Trochu JN, Khandoudi N, Bril A, Balligand JL, Le Marec H. The negative inotropic effect of β_3 -adrenoceptor stimulation is mediated by activation of a nitric oxide synthase pathway in human ventricle. *J Clin Invest* 1998; 102: 1377-1384.

Gensini GF, Lippi D, Conti AA. The renin-angiotensin-aldosterone system, angiotensin I converting enzyme, and the ACE-inhibitors. Historical perspective and recent findings. *Recent Prog Med* 2002; 93: 544-553.

Gomez-Soto FM, Andrey JL, Garcia-Egido AA, Escobar MA, Romero SP, Garcia-Arjona R, Gutierrez J, Gomez F. Incidence and mortality of heart failure: A community-based study. *Int J Cardiol* 2010; *in press*.

Gottlieb SS, McCarter RJ. Comparative effects of three beta blockers (atenolol, metoprolol, and propranolol) on survival after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2001; 87: 823-826.

Gourine A, Bondar SI, Spyer KM, Gourine AV. Beneficial effect of the central nervous system β -adrenoceptor blockade on the failing heart. *Circ Res* 2008; 102: 633-636.

Gurantz D, Cowling RT, Varki N, Frikovsky E, Moore CD, Greenberg BH. IL-1 β and TNF- α upregulate angiotensin II type 1 (AT1) receptors on cardiac fibroblasts and are associated with increased AT1 density in the post-MI heart. *J Mol Cell Cardiol* 2005; 38: 505-515.

Hansteen V, Moinichen E, Lorentsen E, Andersen A, Strom O, Soiland K, Dyrbekk D, Refsum AM, Tromsdal A, Knudsen K, Eika C, Bakken J Jr, Smith P, Hoff PI. One year's treatment with propranolol after myocardial infarction: preliminary report of Norwegian multicentre trial. *Br Med J* 1982; 284: 155-160.

Henze M, Hart D, Samarel A, Barakat J, Eckert L, Scrogin K. Persistent alterations in heart rate variability, baroreflex sensitivity, and anxiety-like behaviors during development of heart failure in the rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 295: 29-38.

Henze M, Hart D, Samarel A, Barakat J, Eckert L, Scrogin K. Persistent alterations in heart rate variability, baroreflex sensitivity, and anxiety-like behaviors during development of heart failure in rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 295: 29-38.

Heusch G. Heart rate in the pathophysiology of coronary blood flow and myocardial ischaemia: benefit from selective bradycardic agents. *Br J Pharmacol* 2008; 153: 1589-1601.

Hjalmarson A, Goldstein S, Fagerberg B, Wedel H, Waagstein F, Kjeksus J, Wikstrand J, El Allaf D, Vítovec J, Aldershvile J, Halinen M, Dietz R, Neuhaus KL, János A, Thorgeirsson G, Dunselman PHJM, Gullestad L, Kuch J, Herlitz J, Rickenbacher P, Ball S, Gottlieb S, Deedwania P, for the MERIT-HF Study Group. Effects of controlled-release metoprolol on total mortality, hospitalizations, and well being in patients with heart failure. The Metoprolol CR/XL Randomized Intervention Trial in Congestive Heart Failure (MERIT-HF). *JAMA* 2000; 283: 1295-1302).

Hochman JS, Bulkley BH. Expansion of acute myocardial infarction: an experimental study. *Circulation* 1982; 65: 1446-1450.

Holmer SR, Hengstenberg C, Mayer B, Engel S, Löwel H, Riegger GAJ, Schunkert H. Marked suppression of renin levels by β -receptor blocker in patients treated with standard heart failure therapy: a potential mechanism of benefit from β -blockade. *J Intern Med* 2001; 249: 167-172.

Holmer SR, Hense HW, Danser AHJ, Mayer B, Riegger GAJ, Schunkert H. β adrenergic blockers lower renin in patients treated with ACE inhibitors and diuretics. *Heart* 1998; 80: 45-48.

Honold J, Geiger L, Assmus B, Fischer-Rasokat U, Schaechinger V, Zeiher AM, Spyridopoulos I. The initial slope of the VCO₂/VO₂-curve (s₁) in cardiopulmonary exercise testing is a strong and independent predictor of outcome in patients with previous myocardial infarction. *Clin Res Cardiol* 2008; 97: 882-890.

Hu K, Gaudron P, Ertl G. Long-term effects of beta-adrenergic blocking agent treatment on hemodynamic function and left ventricular remodeling in rats with

experimental myocardial infarction: importance of timing of treatment and infarct size. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 692-700.

Huang BS, Ahmad M, Tan J, Leenen FHH. Chronic central versus systemic blockade of AT1 receptors and cardiac dysfunction in rats post-myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297: 968-975.

Huang BS, Leenen FHH. Blockade of brain mineralocorticoid receptors or Na⁺ channels prevents sympathetic hyperactivity and improves cardiac function in rats post-MI. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288: 2491-2497.

Ikonomidis JS, Hendrick JW, Parkhurst AM, Herron AR, Escobar PG, Dowdy KB, Stroud RE, Hapke E, Zile MR, Spinale FG. Accelerated LV remodeling after myocardial infarction in TIMP-1-deficient mice: effects of exogenous MMP inhibition. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288: 149-158.

Iwami K, Ashizawa N, Do YS, Graf K, Hsueh WA. Comparison of ANG II with other growth factors on Egr-1 and matrix gene expression in cardiac fibroblasts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1996; 270: 2100-2107.

Jain M, DerSimonian H, Brenner DA, Ngoy S, Teller P, Edge ASB, Zawadzka A, Wetzel K, Sawyer DB, Colucci WS, Apstein CS, Liao R. Cell therapy attenuates deleterious ventricular remodeling and improves cardiac performance after myocardial infarction. *Circulation* 2001; 103: 1920-1927.

Jiang B, Liao R. The paradoxical role of inflammation in cardiac repair regeneration. *J Cardiovasc Transl Res* 2010; 3: 410-416.

Jiang L, Huang Y, Hunyor S, dos Remedios CG. Cardiomyocyte apoptosis is associated with increased wall stress in chronic failing left ventricle. *Eur Heart J* 2003; 24: 742-751.

Johns TNP, Olson BJ. Experimental myocardial infarction. A method of coronary occlusion in small animals. *Ann Surg* 1954; 140: 675-682.

Ju H, Zhao S, Jassal DS, Dixon IM. Effect of AT1 receptor blockade on cardiac collagen remodeling after myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 1997; 35: 223-232.

Ju H, Zhao S, Jassal DS, Dixon IMC. Effect of AT1 receptor blockade on cardiac collagen remodeling after myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 1997; 35: 223-232.

Jugdutt BI, Idikio H, Uwiera RRE. Therapeutic drugs during healing after myocardial infarction modify infarct collagens and ventricular distensibility at elevated pressures. *Mol Cell Biochem* 2007; 304: 79-91.

Kajstura J, Cheng W, Reiss K, Clark WA, Sonnenblick EH, Krajewski S, Reed JC, Olivetti G, Anversa P. Apoptotic and necrotic myocytes cell deaths are independent contributing variables of infarct size in rats. *Lab Invest* 1996; 74: 86-107.

Kametani R, Miura T, Harada N, Shibuya M, Wang R, Tan H, Fukagawa Y, Kawamura S, Matsuzaki M. Carvedilol inhibits mitochondrial oxygen consumption and superoxide production during calcium overload in isolated heart mitochondria. *Circ J* 2006; 70: 321-326.

Karlsberg RP, Penkoske PA, Cryer PE, Corr PB, Roberts R. Rapid activation of the sympathetic nervous system following coronary artery occlusion: relationship to infarct size, site, and haemodynamic impact. *Cardiovasc Res* 1979; 13: 523-531.

Kaschina E, Grzesiak A, Li J, Foryst-Ludwig A, Timm M, Rompe F, Sommerfeld M, Kemnitz UR, Curato C, Namsolleck P, Tschöpe C, Hallberg A, Alterman M, Hucko T, Paetsch I, Dietrich T, Schnackenburg B, Graf K, Dahlöf B, Kintscher U, Unger T, Steckelings UM. Angiotensin II type 2 receptor stimulation. A novel option of therapeutic interference with the renin-angiotensin system in myocardial infarction? *Circulation* 2008; 118:2523-2532.

Katada J, Meguro T, Saito H, Ohashi A, Anzai T, Ogawa S, Yoshikawa T. persistent cardiac aldosterone synthesis in angiotensin II type 1A receptor-knockout mice after myocardial infarction. *Circulation* 2005; 111: 2157-2164.

Keating GM, Jarvis B. Carvedilol: a review of its use in chronic heart failure. *Drugs* 2003; 63: 1697-1741.

Kerr WJ. Heart failure: its underlying causes, clinical manifestations and treatment. *Cal State J Med* 1923; 21: 417-420.

Kim HE, Dalal SS, Young E, Legato MJ, Weisfeldt ML, D'Armiento. Disruption of the myocardial extracellular matrix leads to cardiac dysfunction. *J Clin Invest* 2000; 106: 857-866.

Kobayashi M, Machida N, Mitsuishi M, Yamane Y. Beta-blocker improves survival, left ventricular function, and myocardial remodeling in hypertensive rats with diastolic heart failure. *Am J Hypertens* 2004; 17: 1112-1119.

Koh SG, Brenner DA, Korzick DH, Tickerhoof MM, Apstein CS, Saupe KW. Exercise intolerance during post-MI heart failure in rats: prevention with supplemental dietary propionyl-L-carnitine. *Cardiovasc Drugs Ther* 2003; 17: 7-14.

Kostuk WJ, Kazamias TM, Gander MP, Simon AL, Ross JJr. Left ventricular size after acute myocardial infarction: serial changes and their prognostic significance. *Circulation* 1973; 47: 1174-1179.

Krüger C, Kalenka A, Haunstetter A, Schweizer M, Maier C, Rühle U, Ehmke H, Kübler W, Haass M. Baroreflex sensitivity and heart rate variability in conscious rats with myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1997; 273: 2240-2247.

Kung T, Szabó T, Springer J, Doehner W, Anker SD, von Haehling S. Cachexia in heart disease: highlights from the ESC 2010. *J Cachex Sarcopenia Muscle* 2011; 2: 63-69.

Kuno A, Miura T, Tsuchida A, Hasegawa T, Miki T, Nishino Y, Shimamoto K. Blockade of angiotensin II type 1 receptors suppressed free radical production and preserved coronary endothelial function in the rabbit heart after myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002; 39: 49-57.

Kurum T, Tatli E, Yuksel M. Effects of carvedilol on plasma levels of pro-inflammatory cytokines in patients with ischemic and nonischemic dilated cardiomyopathy. *Tex Heart Inst J* 2007; 34: 52-59.

Lal HB, Caroli RK, Sen Gupta D, Basumallick SN. A preliminary report of clinical trial of a new adrenergic β -receptor blocking agent – “Propranolol” (innderalX) in a few cases of arrhythmias, especially after myocardial infarction. *J Assoc Physicians India* 1966; 14: 661-665.

Lambert JM, Lopez EF, Lindsey ML. Macrophage roles following myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2008; 130: 147-158.

Lechat P, Hulot JS, Escolano S, Mallet A, Leizorovicz A, Werhlen-Grandjean M, Pochmalicki G, Dargie H. Heart rate and cardiac rhythm relationships with bisoprolol benefit in chronic heart failure in CIBIS II Trial. *Circulation* 2001; 103: 1428-1433.

Lee TM, Lin MS, Chang NC. Inhibition of histone deacetylase on ventricular remodeling in infarcted rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293: 968-977.

Leenen FHH. Brain mechanisms contributing to sympathetic hyperactivity and heart failure. *Circ Res* 2007; 101: 221-223.

Leenen HH, Yuan B. Mortality after coronary artery occlusion in different models of cardiac hypertrophy in rats. *Hypertension* 2001; 37: 209-215.

Leite CM, Gomes MG, Vassallo DV, Mill JG. Changes in collagen content in the residual myocardium surviving after infarction in rats. Influence of propranolol or hydralazine therapy. *Arch Med Res* 1995; 26: 79-84.

Lemarie CA, Simeone SMC, Nikonova A, Ebrahimian T, Deschênes ME, Coffman TM, Paradis P, Schiffrin EM. Aldosterone-induced activation of signaling pathways requires activity of angiotensin type 1a receptors. *Circ Res* 2009; 105: 852-859.

Levy D, Kenchaiah S, Larson MG, Benjamin EJ, Kupka MJ, Ho KK, Murabito JM, Vasan RS. Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure. *N Engl J Med* 2002, 347: 1397-1402.

Li B, Liao YH, Cheng X, Ge H, Guo H, Wang M. Effects of carvedilol on cardiac cytokines expression and remodeling in rat with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2006; 111: 247-255.

Lijnen P, Petrov V. Renin-angiotensin system, hypertrophy and gene expression in cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31: 949-970.

Lindpaintner K, Wilhelm MJ, Jin M, Unger T, Lang RE, Schoelkens BA, Ganten D. Tissue renin-angiotensin systems: focus on the heart. *J Hypertens* 1987; 5: S33-S38.

Ling PR, Schwartz JH, Bistrian BR. Mechanisms of host wasting induced by administration of cytokines in rats. *Am J Physiol Endo Met* 1997; 272: 333-339.

Liu H, Li W, Gu W, Kong Y, Yang N, Chen L. Immunoregulatory effects of carvedilol on rat experimental autoimmune myocarditis. *Scand J Immunol* 2010; 71: 38-44.

Liu Y, Leri A, Li B, Wang X, Cheng W, Kajstura J, Anversa P. Angiotensin II stimulation in vitro induces hypertrophy of normal and postinfarcted ventricular myocytes. *Circ Res* 1998; 82: 1145-1159.

Liu Y, Leri A, Li B, Wang X, Cheng W, Kajstura J, Anversa P. Angiotensin II stimulation in vitro induces hypertrophy of normal and postinfarcted ventricular myocytes. *Circ Res* 1998; 82: 1145-1159.

Lynch GS, Ryall JG. Role of β -adrenoceptor signaling in skeletal muscle: implications for muscle wasting and disease. *Physiol Rev* 2008; 88: 729-767.

Macdonald PS, Keogh AM, Aboyoun CL, Lund M, Amor R, McCaffrey DJ. Tolerability and efficacy of carvedilol in patients with New York Heart Association class IV heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 924-931.

Machackova J, Sanganalmath SK, Barta J, Dhalla KS, Dhalla NS. Amelioration of cardiac remodeling in congestive heart failure by beta-adrenoceptor blockade is associated with depression in sympathetic activity. *Cardiovasc Toxicol* 2010; 10: 9-16.

MacIntyre K, Capewell S, Stewart S, Chalmers JW, Boyd J, Finlayson A, Redpath A, Pell JP, McMurray JJ. Evidence of improving prognosis in heart failure: trends in case fatality in 66 547 patients hospitalized between 1986 and 1995. *Circulation* 2000; 102: 1126-1131.

Maczewski M, Mackiewicz U. Effect of metoprolol and ivabradine on left ventricular remodeling and Ca^{2+} handling in the post-infarction rat heart. *Cardiovasc Res* 2008; 79: 42-51.

Marano G, Palazzesi S, Fadda A, Vergari A, Ferrai AU. Attenuation of aortic banding-induced cardiac hypertrophy by propranolol is independent of beta-adrenoceptor blockade. *J Hypertens* 2002; 20: 763-769.

Matsumura T, Tsushima K, Ohtaki E, Misu K, Tohbaru T, Asano R, Nagayama M, Kitahara K, Umemura J, Sumiyoshi T, Hosoda S. Effects of carvedilol on plasma levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α in nine patients with dilated cardiomyopathy. *J Cardiol* 2002; 39: 253-257.

Mattioli G, Ricci S, Rigo R, Fusaro MT, Cappello C. Effects of captopril in heart failure complicating acute myocardial infarction and persistence of acute haemodynamic effects in chronic heart failure after 3 years of treatment. *Postgrad Med J* 1986; 62: 164-166.

McAlpine HM, Cobbe SM. Neuroendocrine changes in acute myocardial infarction. *Am J Med* 1988; 84: 61-66.

McAlpine HM, Morton JJ, Leckie B, Dargie HJ. Haemodynamic effects of captopril in acute left ventricular failure complicating myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987; 9: 25-30.

McCullough PA, Philbin EF, Spertus JA, Kaatz S, Sandberg KR, Weaver WD. Confirmation of a heart failure epidemic: findings from the resource utilization among congestive heart failure (REACH) study. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 60-69.

McMurray JJ, Pfeffer MA, Swedberg K, Dzau VJ. Which inhibitor of the renin-angiotensin system should be used in chronic heart failure and acute myocardial infarction? *Circulation* 2004; 110: 3281-3288.

Metra M, Giubbini R, Nodari S, Boldi E, Modena MG, Dei Cas L. Differential effects of beta-blockers in patients with heart failure: A prospective, randomized, double-blind comparison of the long-term effects of metoprolol versus carvedilol. *Circulation* 2000; 102: 546-551.

Meyrelles SS, Bernardes CF, Modolo RP, Mill JG, Vasquez EC. Bezold-Jarisch reflex in myocardial infarcted rats. *J Auton Nervous Syst* 1997; 63: 144-152.

Meyrelles SS, Mill JG, Cabral AM, Vasquez EC. Cardiac baroreflex properties in myocardial infarcted rats. *J Auton Nervous Syst* 1996; 69: 163-168.

Milanez MC, Gomes MG, Vassallo DV, Mill JG. Effects of captopril on interstitial collagen in the myocardium after infarction in rats. *J Card Fail* 1997; 3: 189-197.

Mill JG, Milanez MC, Resende MM, Gomes MGS, Leite CM. Spironolactone prevents cardiac collagen proliferation after myocardial infarction in rats. *Clin Experim Pharmacol Physiol* 2003; 30: 739-744.

Mill JG, Milanez Mda C, Busatto VC, de Moraes AC, Gomes Mda G. Activation of the cardiac angiotensin-converting enzyme after myocardial infarction and its role in ventricular remodeling. *Arq Bras Cardiol* 1997; 69: 101-110.

Mill JG, Stefanon I, Leite CM, Vassallo DV. Changes in performance of the surviving myocardium after left ventricular infarction in rats. *Cardiovasc Res* 1990; 24: 748-753.

Mill JG, Vassallo DV, Leite CM. Time course of changes in heart rate and sympathetic tone after coronary artery ligation in rats. *Braz J Med Biol Res* 1991; 24: 855-858.

Miyauchi T, Fujimori A, Maeda S, Iemitsu M, Sakai S, Shikama H, Tanabe T, Matsuda M, Goto K, Yamaguchi I. Chronic administration of an endothelin-a receptor antagonist improves exercise capacity in rats with myocardial infarction-induced congestive heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004; 44: 64-67.

Modolo RP, Bernardes CF, Vasquez EC, Mill JG. Evaluation of the vagal efferent pathway in rats in the acute and chronic phases of myocardial infarction. *Arq Bras Cardiol* 1995; 65: 17-22.

Moro C, Jouan MG, Rakotovo A, Toufektsian MC, Ormezzano O, Nagy N, Tosaki A, de Leiris J, Boucher F. Delayed expression of cytokines after reperfused myocardial infarction: possible trigger for cardiac dysfunction and ventricular remodeling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293: 3014-3019.

Movahed MR, John J, Hashemzadeh M, Jamal MM, Hashemzadeh M. Trends in the age adjusted mortality from acute ST segment elevation myocardial infarction in the United States (1988-2004) based on race, gender, infarct location and comorbidities. *Am J Cardiol* 2009; 104: 1030-1034.

Murray DR, Prabhu SD, Chandrasekar B. Chronic β -adrenergic stimulation induces myocardial proinflammatory cytokine expression. *Circulation* 2000; 101: 2338-2341.

Nabah YNA, Mateo T, Estellés R, Mata M, Zagorski J, Sarau H, Cortijo J, Morcillo EJ, Jose PJ, Sanz MJ. Angiotensin II induces neutrophil accumulation in vivo through generation and release of CXC chemokines. *Circulation* 2004; 110: 3581-3586.

Nagaya N, Uematsu M, Kojima M, Ikeda Y, Yoshihara F, Shimizu W, Hosoda H, Hirota Y, Ishida H, Mori H, Kangawa K. Chronic administration of ghrelin improves left ventricular dysfunction and attenuates development of cardiac cachexia in rats with heart failure. *Circulation* 2001; 104: 1430-1435.

Najafi F, Jamrozik K, Dobson AJ. Understanding the 'epidemic of heart failure': a systematic review of trends in determinants of heart failure. *Eur J Heart Fail* 2009; 11: 472-479.

Nakayama H, Chen X, Baines CP, Klevitsky R, Zhang X, Zhang H, Jaleel N, Chua BH, Hewett TE, Robbins J, Houser SR, Molkentin JD. Ca^{2+} - and mitochondrial-dependent cardiomyocyte necrosis as a primary mediator of heart failure. *J Clin Invest* 2007; 117: 2431-2444.

Nguyen KN, Aursnes I, Kjekshus J. Interaction between enalapril and aspirin on mortality after acute myocardial infarction: subgroup analysis of the Cooperative New Scandinavian Enalapril Survival Study II (CONSENSUS II). *Am J Cardiol* 1997; 79: 115-119.

Nijland F, Kamp O, Verhorst PMJ, de Voogt WG, Bosch HG, Visser CA. Myocardial viability: impact on left ventricular dilatation after acute myocardial infarction. *Heart* 2002; 87: 17-22.

Nio Y, Matsubara H, Murasawa S, Kanasaki M, Inada M. Regulation of gene transcription of angiotensin II receptor subtypes in myocardial infarction. *J Clin Invest* 1995; 95: 46-54.

Nishikimi T, Tani T, Ohmura T, Yamagishi H, Yanagi S, Yoshiyama M, Toda I, Teragaki M, Akioka K, Takeuchi K. Angiotensin II type-1 receptor antagonist as well as angiotensin converting enzyme inhibitor attenuates the development of heart failure in aortocaval fistula rats. *Jpn Circ J* 2001; 59: 754-761.

Norris RM, Bensley KE, Caughey DE, Scott PJ. Hospital mortality in acute myocardial infarction. *Br Med J* 1968; 3: 143-146.

Norris RM, Cross DB, Wild CJ, Whitlock RML. Prognosis after recovery from myocardial infarction: the relative importance of cardiac dilatation and coronary stenoses. *Eur Heart J* 1992; 13: 1611-1618.

Ocaranza MP, Lavandero S, Jalil JE, Moya J, Pinto M, Novoa U, Apablaza F, Gonzalez L, Hernandez C, Varas M, Lopez R, Godoy I, Verdejo H, Chiong M. Angiotensin-(1-9) regulates cardiac hypertrophy in vivo and in vitro. *J Hypertens* 2010; 28: 1054-1064.

Ohnishi H, Oka T, Kusachi S, Nakanishi T, Takeda K, Nakahama M, oi M, Murakami T, Ninomiya Y, Takigawa M, Tsuji T. Increased expression of connective tissue growth factor in the infarct zone of experimentally induced myocardial infarction in rats. *J Mol Cell Cardiol* 1998; 30: 2411-2422.

Oliveira PJ, Marques MPM, Batista de Carvalho LAE, Moreno AJM. Effects of carvedilol on isolated heart mitochondria: evidence for a protonophoretic mechanism. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 276: 82-87.

Oliveira PJ, Rolo AP, Sardão VA, Monteiro P, Gonçalves L, Providência LA, Palmeira CM, Moreno AJM. Advantages in the use of carvedilol versus propranolol for the protection of cardiac mitochondrial function. *Rev Port Cardiol* 2004; 23: 1291-1298.

Olivetti G, Capasso JM, Sonnenblick EH, Anversa P. Side-to-side slippage of myocytes participates in ventricular wall remodeling acutely after myocardial infarction in rats. *Circ Res* 1990; 67: 23-34.

Ono K, Matsumori A, Shioi T, Furukawa Y, Sasayama S. Cytokine gene expression after myocardial infarction in rat hearts: possible implication in left ventricular remodeling. *Circulation* 1998; 98: 149-156.

Optiz CF, Mitchell GF, Pfeffer MA, Pfeffer JM. Arrhythmias and death after coronary artery occlusion in the rat. Continuous telemetric ECG monitoring in conscious, untethered rats. *Circulation* 1995; 92: 253-261.

Packer M, Bristow MR, Cohn JN, Colucci WS, Fowler MB, Gilbert EM, Shusterman NH, for the U.S. Carvedilol Heart Failure Study Group. The effect of Carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. *N Engl J Med* 1996; 334:1349-1355.

Packer M, Coats AJS, Fowler MB, Katus HA, Krum H, Mohacsi P, Rouleau JL, Tendera M, Castaigne A, Roecker EB, Schultz MK, DeMets DL, for the Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival Study Group. Effect of Carvedilol on survival in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 2001; 344: 1651-1658).

Packer M, Colucci WS, Sackner-Bernstein JD, Liang CS, Goldscher DA, Freeman I, Kukin ML, Kinhal V, Udelson JE, Klapholz M, Gottlieb SS, Pearle D, Cody RJ, Grogory JJ, Kantrowitz NE, LeJemtel TH, Young ST, Lukas MA, Shusterman NH, for the PRECISE Study Group. Double-blind, placebo-controlled study of the effects of Carvedilol in patients with moderate to severe heart failure. The PRECISE Trial. *Circulation* 1996; 94: 2793-2799.

Paletta MJ, Abraham S, Beatch GN, Walker MJ. Mechanisms underlying the antiarrhythmic properties of beta-adrenoceptor blockade against ischaemia-induced arrhythmias in acutely prepared rats. *Br J Pharmacol* 1989; 98: 87-94.

Palojoki E, Saraste A, Eriksson A, Pulkki K, Kallajoki M, Voipio-Pulkki LM, Tikkanen I. Cardiomyocyte apoptosis and ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: 2726-2731.

Palus S, Akashi Y, von Haehling S, Anker SD, Springer J. The influence of age and sex on disease development in a novel animal model of cardiac cachexia. *Int J Cardiol* 2009; 133: 388-393.

Paradis P, Dali-Youcef N, Paradis FW, Thibault G, Nemer M. Overexpression of angiotensin II type I receptor in cardiomyocytes induces cardiac hypertrophy and remodeling. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 97: 931-936.

Park M, Shen YT, Gaussin V, Heyndrickx GR, Bartunek J, Resuello RR, Natividad FF, Kitsis RN, Vatner DE, Vatner SF. Apoptosis predominates in nonmyocytes in heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 297: 785-791.

Passier RC, Smits JF, Verluyten MJ, Daemen MJ. Expression and localization of renin and angiotensinogen in rat heart after myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1996; 271: 1040-1048.

Patel KP, Zhang K, Carmines PK. Norepinephrine turnover in peripheral tissues of rats with heart failure. *Am J Physiol Regul Integr Com Physiol* 2000; 278: 556-562.

Paul M, Mehr AP, Kreutz R. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol Rev* 2006; 86: 747-803.

Paul S. Ventricular remodeling. *Crit Care Nurs Clin N Am* 2003; 407-411.

Peña JR, Wolska BM. Differential effects of isoflurane and ketamine/inaction anesthesia on cAMP and cardiac function in FVB/N mice during basal state and β -adrenergic stimulation. *Basic Res Cardiol* 2005; 100: 147-153.

Perrino C, Naga Prasad SV, Patel M, Wolf MJ, Rockman HA. Targeted inhibition of beta-adrenergic receptor kinase-1-associated phosphoinositide-3 kinase activity preserves beta-adrenergic receptor signaling and prolongs survival in heart failure induced by calsequestrin overexpression. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1862-1870.

Perrino C, Schroder JN, Lima B, Villamizar N, Nienaber JJ, Milano CA, Naga Prasad SV. Dynamic regulation of phosphoinositide 3-kinase-gamma activity and beta-adrenergic receptor trafficking in end-stage human heart failure. *Circulation* 2007; 116: 2571-2579.

Peterson JT, Li H, Dillon L, Bryant JW. Evolution of matrix metalloprotease and tissue inhibitor expression during heart failure progression in the infarcted rat. *Cardiovasc Res* 2000; 46: 307-315.

Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circ Res* 1985; 57: 84-95.

Pfeffer MA, McMurray JJV, Velazquez EJ, Rouleau JL, Kober L, Maggioni AP, Solomon SD, Swedberg K, Van de Werf F, White H, Leimberger JD, Henis M, Edwards S, Zelenkofske S, Sellers MA, Califf RM, for the Valsartan in Acute Myocardial Infarction Trial Investigators. Valsartan, captopril, or both in myocardial infarction complicated by heart failure, left ventricular dysfunction, or both. *N Engl J Med* 2003; 349: 1893-1906.

Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, Braunwald E. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res* 1979; 44: 503-512.

Pfeffer MA, Pfeffer JM, Steinberg C, Finn P. Survival after an experimental myocardial infarction: beneficial effects of long-term therapy with captopril. *Circulation* 1985; 72: 406-412.

Pfeffer MA, Pfeffer JM. Ventricular enlargement and reduced survival after myocardial infarction. *Circulation* 1987; 75: 93-97.

Piegas LS, Feitosa G, Mattos LA, Nicolau JC, Rossi Neto JM et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Tratamento do Infarto agudo do Miocárdio com Supradesnível do Segmento ST. *Arq Bras Cardiol* 2009;93 : e179-e264.

Platts MM, Hanley T. Aminometradine in treatment of congestive heart failure. *Br Med J* 1956; 1: 1078-1080.

Prabhu SD, Wang G, Luo J, Gu Y, Ping P, Chandrasekar B. β -Adrenergic receptor blockade modulates Bcl-xS expression and reduces apoptosis in failing myocardium. *J Mol Cel Cardiol* 2003; 35: 483-493.

Prunier F, Gaertner R, Louedec L, Michel JB, Mercadier JJ, Escoubet B. Doppler echocardiographic estimation of left ventricular end-diastolic pressure after MI in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283: 346-352.

Qian L, Song X, Ren H, Gong J, Cheng S. Mitochondrial mechanism of heat stress-induced injury in rat cardiomyocytes. *Cell Stress & Chaperones* 2004; 9: 281-293.

Raina N, Jeejeebhoy KN. Changes in body composition and dietary intake induced by tumor necrosis factor alpha and corticosterone--individually and in combination. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1284-1290.

Remme WJ, on behalf of the CARMEN Steering Committee and Investigators. The carvedilol and ACE-inhibitor remodeling mild heart failure evaluation trial (CARMEN) – Rationale and design. *Cardiovasc Drugs Ther* 2001; 15: 69-77.

Remme WJ, Riegger G, Hildebrandt P, Komajda M, Jaarsma W, Bobbio M, Soler-Soler J, Scherhag A, Lutiger B, Rydén L, on behalf of the CARMEN investigators and co-ordinators. The benefits of early combination treatment of Carvedilol and an ACE-inhibitor in mild heart failure and left ventricular systolic dysfunction. The Carvedilol and ACE-inhibitors remodeling mild heart failure evaluation trial (CARMEN). *Cardiovasc Drugs Ther* 2004; 18: 57-66.

Remme WJ. Beta blockers or angiotensina-converting-enzyme inhibitor/angiotensina receptor blocker: what should be first? *Cardiol Clin* 2007; 25: 581-594.

Remme WJ. Could beta-blockers precede or replace angiotensin-converting enzyme inhibitors in heart failure. *Heart Fail Clin* 2005; 1: 67-75.

Resende MM, Kauser K, Mill JG. Regulation of cardiac and renal mineralocorticoid receptor expression by captopril following myocardial infarction in rats. *Life Sci* 2006; 78: 3066-3073.

Resende MM, Mill JG. Alternate angiotensin II-forming pathways and their importance in physiological or physiopathological conditions. *Arq Bras Cardiol* 2002; 78: 425-438.

Resende MM, Mill JG. Effect of high salt intake on local renin-angiotensin system and ventricular dysfunction following myocardial infarction in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34: 274-279.

Riegger GA, Bouzo H, Petr P, Munz J, Spacek R, Pethig H, von Behren V, George M, Arens H. Improvement in exercise tolerance and symptoms of congestive heart failure during treatment with candesartan cilexetil: Symptom, Tolerability, Response to Exercise Trial of Candesartan Cilexetil in Heart Failure (STRETCH) Investigators. *Circulation* 1999; 100: 2224-2230.

Roberts CS, D Maclean, P Maroko, RA Kloner. Early and late remodeling of the left ventricular after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1984; 54: 407-410.

Roberts R, DeMello V, Sobel BE. Deleterious effects of methylprednisolone in patients with myocardial infarction. *Circulation* 1976; 53: 1204-1206.

Robinson TF, Geraci MA, Sonnenblick EH, Factor SM. Coiled perimysial fibers of papillary muscle in rat heart: morphology, distribution, and changes in configuration. *Circ Res* 1988; 63: 577-592.

Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Adams RJ, Berry JD, Brown TM, Carnethon MR, Dai S, de Simone G, Ford ES, Fox CS, Fullerton HJ, Gillespie C, Greenlund KJ, Hailpern SM, Heit JA, Ho PM, Howard VJ, Kissela BM, Kittner SJ, Lackland DT, Lichtman JH, Lisabeth LD, Makuc DM, Marcus GM, Marelli A, Matchar DB, McDermott MM, Meigs JB, Moy CS, Mozaffarian D, Mussolino ME, Nichol G, Paynter NP, Rosamond WD, Sorlie PD, Stafford RS, Turan TN, Turner MB, Wong ND, Wylie-Rosett J; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics--2011 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2011; 123: e18-e209.

Roger VL, Weston SA, Redfield MM, Hellermann-Homan JP, Killian J, Yawn BP, Jacobsen SJ. Trends in heart failure incidence and survival in a community-based population. *JAMA* 2004; 292: 344-350.

Roger VL. The heart failure epidemic. *Int J Environ Res Public Health* 2010; 7: 1807-1830.

Roth DM, Swaney JS, Dalton ND, Gilpin EA, Ross JJr. Impact of anesthesia on cardiac function during echocardiography in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 282: 2134-2140.

Rouleau JL, Chatterjee K, Bengt W, Parmley WW, Hiramatsu B. Alterations in left ventricular function and coronary hemodynamics with captopril, hydralazine and

prazosin in chronic ischemic heart failure: a comparative study. *Circulation* 1982; 65: 671-678.

Rudolf RD. An address on the treatment of chronic heart failure. *Can Med Assoc J* 1925; 15: 17-20.

Ryan TJ, Antman EM, Brooks NH, Califf RM, Hillis LD, Hiratzka LF, Rapaport E, Riegel B, Russell RO, Smith EE 3rd, Weaver WD, Gibbons RJ, Alpert JS, Eagle KA, Gardner TJ, Garson A Jr, Gregoratos G, Smith SC Jr. 1999 update: ACC/AHA Guidelines for the Management of Patients With Acute Myocardial Infarction: Executive Summary and Recommendations: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Management of Acute Myocardial Infarction). *Circulation* 1999; 100: 1016-1030.

Rymaszewski Z, Poplawska W, Preibisz J, Januszewicz W. Clinical evaluation of practolol in acute arrhythmias. *Br Heart J* 1972; 34: 260-262.

Sadoshima J, Xu Y, Slayter HS, Izumo S. Autocrine release of angiotensin II mediates stretch-induced hypertrophy of cardiac myocytes in vitro. *Cell* 1993; 75: 977-984.

Saito T, Rodger IW, Shennib H, Hu F, Tayara L, Giaid A. Cyclooxygenase-2 (COX-2) in acute myocardial infarction: cellular expression and use of selective COX-2 inhibitor. *Can J Physiol Pharmacol* 2003; 81: 114-119.

Sandler G, Pistevos AC. Use of oxprenolol in cardiac arrhythmias associated with acute myocardial ischaemia. *Br Med J* 1971; 1: 254-257.

Santos AA, Helber I, Flumignan RL, Antonio EL, Carvalho AC, Paola AA, Tucci PJ, Moises VA. Doppler echocardiographic predictors of mortality in female rats after myocardial infarction. *J Card Fail* 2009; 15: 163-168.

Santos RA, Krieger EM, Greene LJ. Na improved fluorimetric assay of rat serum and plasma converting enzyme. *Hypertension* 1985; 7: 244-252.

Santos RAS, Ferreira AJ, Simões e Silva AC. Recent advances in the angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin(1-7)-Mas axis. *Exp Physiol* 2008; 93: 519-527.

Saraiva RM, Kanashiro-Takeuchi RM, Antonio EL, Campos O, Tucci PJF, Moisés VA. Rats with high left ventricular end-diastolic pressure can be identified by Doppler echocardiography one week after myocardial infarction. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40: 1557-1565.

Sartório CL, Fraccarollo D, Galuppo P, Leutka M, Ertl G, Stefanon I, Bauersachs J. Mineralocorticoid receptor blockade improves vasomotor dysfunction and vascular oxidative stress early after myocardial infarction. *Hypertension* 2007; 50: 919-925.

Sartório CL, Pinto VD, Cutini GJS, Vassallo DV, Stefanon I. Effects of inducible nitric oxide synthase inhibition on the rat tail vascular bed reactivity three days after myocardium infarction. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 45: 321-326.

Schieffer B, Wirger A, Meybrunn M, Seitz S, Holtz J, Riede UN, Drexler H. Comparative effects of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II type 1 receptor blockade on cardiac remodeling after myocardial infarction in the rat. *Circulation* 1994; 89: 2273-2282.

Schwarz K, Simoni G, Yu X, Wiedemann S, Strasser RH. Apoptosis at a distance: remote activation of caspase-3 occurs early after myocardial infarction. *Mol Cell Biochem* 2006; 281:45-54.

Sharpe DN, Murphy J, Coxon R, Hanna SF. Enalapril in patients with chronic heart failure: a placebo-controlled, randomized, double-blind study. *Circulation* 1984; 70: 271-278.

Shaw LJ, Olson MB, Kip K, Kelsey SF, Johnson BD, Mark DB, Reis SE, Mankad S, Rogers WJ, Pohost GM, Arant CB, Wessel TR, Chaitman BR, Sopko G, Handberg E, Pepine CJ, Bairey Merz CN. The value of estimated functional capacity in estimating outcome: results from the NHBLI-Sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation (WISE) Study. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47: 36-43.

Shishido T, Nozaki N, Yamaguchi S, Shibata Y, Nitobe J, Miyamoto T, Takahashi H, Arimoto T, Maeda K, Yamakawa M, Takeuchi O, Akira S, Takeishi Y, Kubota I. Toll-like receptor-2 modulates ventricular remodeling after myocardial infarction. *Circulation* 2003; 108: 2905-2910.

Sia YT, Parker TG, Tsoporis JN, Liu P, Adam A, Rouleau JL. Long-term effects of carvedilol on left ventricular function, remodeling, and expression of cardiac cytokines after large myocardial infarction in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002; 39: 73-87.

Silvestre JS, Heymes C, Oubénaissa A, Robert V, Aupetit-Faisant B, Carayon A, Swynghedauw B, Delcayre C. Activation of cardiac aldosterone production in rat myocardial infarction. Effect of angiotensin II receptor blockade and role in cardiac fibrosis. *Circulation* 1999; 99: 2694-2701.

Simonis G, Wiedemann S, Schwarz K, Christ T, Sedding DG, Yu X, Marquetant R, Braun-Dullaeus RC, Ravens U, Straser RH. Chelerythrine treatment influences the balance of pro- and anti-apoptotic signaling pathways in the remote myocardium after infarction. *Mol Cell Biochem* 2008; 310: 119-128.

Sliwa K, Norton GR, Kone N, Candy G, Kachope J, Woodiwiss AJ, Libhaber C, Sareli P, Essop R. Impact of initiating Carvedilol before angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy on cardiac function in newly diagnosed heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44: 1825-1830.

Sloman G, Stannard M. Beta-adrenergic blockade and cardiac arrhythmias. *Br Med J* 1967; 4: 508-512.

Snow PJ. Effect of propranolol in myocardial infarction. *Lancet* 1965; 2: 551-553.

Spinale FG, Escobar GP, Hendrick JW, Clark LL, Camens SS, Mingoia JP, Squires CG, Stroud RE, Ikonomidis JS. Chronic matrix metalloproteinase inhibition following myocardial infarction in mice: differential effects on short and long-term survival. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 318: 966-973.

Starkopf J, Hegna S, Johansen OE, Munch-Ellingsen J, Mjos OD, Ytrehus K. In vivo chronic carvedilol treatment in rats attenuates ex vivo regional infarction of the heart. *Scand Cardiovasc J* 2006; 40: 240-247.

Steckelings UM, Rompe F, Kaschina E, Namsolleck P, Grzesiak A, Funke-Kaiser H, Bader M, Unger T. The past, present and future of angiotensin II type 2 receptor stimulation. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2010; 11: 33-36.

Steffen BT, Lees SJ, Booth FW. Anti-TNF treatment reduces rat skeletal muscle wasting in monocrotaline-induced cardiac cachexia. *J Appl Physiol* 2008; 105: 1950-1958.

Stein AB, Tiwari S, Thomas P, Hunt G, Levent C, Stoddard MF, Tang XL, Bolli R, Dawn B. Effects of anesthesia on echocardiographic assessment of left ventricular structure and function in rats. *Basic Res Cardiol* 2007; 102: 28-41.

Studer R, Reinecke H, Müller B, Holtz J, Just H, Drexler H. Increased angiotensin-I converting enzyme gene expression in the failing human heart. Quantification by competitive RNA polymerase chain reaction. *J Clin Invest* 1994; 94: 301-310.

Sugano Y, Anzai T, Yoshikawa T, Maekawa Y, Kohno T, Mahara K, Naito K, Ogawa S. Granulocyte colony-stimulating factor attenuates early ventricular expansion after experimental myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 446-456.

Sun M, Dawood F, Wen WH, Chen M, Dixon I, Kirshenbaum LA, Liu PP. Excessive tumor necrosis factor activation after infarction contributes to susceptibility of myocardial rupture and left ventricular dysfunction. *Circulation* 2004; 110: 3221-3228.

Sun Y, Ratajska A, Weber KT. Inhibition of angiotensin-converting enzyme and attenuation of myocardial fibrosis by lisinopril in rats receiving angiotensin II. *J Lab Clin Med* 1995; 126: 95-101.

Sun Y, Weber KT. Angiotensin converting enzyme and myofibroblasts during tissue repair in the rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28: 851-858.

Sun Y, Weber KT. Angiotensin II receptor binding following myocardial infarction in the rat. *Cardiovasc Res* 1994; 28: 1623-1628.

Sun Y, Zhang JQ, Zhang J, Lamparter S. Cardiac remodeling by fibrous tissue after infarction in rats. *J Lab Clin Med* 2000; 135: 316-323.

Sun Y. Intracardiac renin-angiotensin system and myocardial repair/remodeling following infarction. *J Mol Cell Cardiol* 2010; 48: 483-489.

Sun YL, Hu SJ, Wang LH, Hu Y, Zhou JY. Comparison of low and high doses of carvedilol on restoration of cardiac function and calcium-handling proteins in rat failing heart. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2005; 32: 553-560.

Sun YL, Hu SJ, Wang LH, Hu Y, Zhou JY. Effect of β -blockers on cardiac function and calcium handling protein in postinfarction heart failure rats. *Chest* 2005; 128: 1812-1821.

Swedberg K, Held P, Kjekshus J, Rasmussen K, Rydén L, Wedel H, on behalf of the CONSENSUS II Study Group. Effects of the early administration of enalapril on mortality in patients with acute myocardial infarction. Results of the Cooperative New Scandinavian Enalapril Survival Study II (CONSENSUS II). *N Engl J Med* 1992; 327: 687-684.

Tan SM, Zhang Y, Connelly KA, Gilbert RE, Kelly DJ. Targeted inhibition of activin receptor-like kinase 5 signaling attenuates cardiac dysfunction following myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 298: 1415-1425.

Teisman ACH, van Veldhuisen DJ, Boomsma F, de Kam PJ, Tjeerdsma G, Pinto YM, Zeeuw D, van Gilst WH. Chronic beta-blocker treatment in patients with advanced heart failure. Effects on neurohormones. *Int J Cardiol* 2000; 73: 7-12.

The Beta-Blocker Evaluation of Survival Trial Investigators. A trial of the beta-blocker bucindolol in patients with advanced chronic heart failure. *N Engl J Med* 2001; 344: 1659-1667.

The CAPRICORN Investigators. Effect of Carvedilol on outcome after myocardial infarction in patients with left-ventricular dysfunction: the CAPRICORN randomized trial. *Lancet* 2001; 357: 1385-1390.

The CONSENSUS Trial Study Group. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. Results of the cooperative north Scandinavian enalapril survival study (CONSENSUS). *N Engl J Med* 1987; 316: 1429-1435.

The CONSENSUS Trial Study Group. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure: results of the Cooperative North Scandinavian Enalapril Survival Study (CONSENSUS). *N Engl J Med* 1987; 316: 1429-1435.

The RESOLVD Investigators. Effects of metoprolol CR in patients with ischemic and dilated cardiomyopathy. The randomized evaluation of strategies for left ventricular dysfunction pilot study. *Circulation* 2000; 101: 378-384.

The SOLVD Investigators. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. *N Engl J Med* 1991; 325: 293-302.

Timmers L, Sluijter JPG, van Keulen JK, Hoefer IE, Nederhoff MGJ, Goumans MJ, Doevendans PA, van Echteld CJA, Joles JA, Quax PH, Piek JJ, Pasterkamp G, de Kleijn DPV. Toll-like receptor 4 mediates maladaptive left ventricular remodeling and impairs cardiac function after myocardial infarction. *Circ Res* 2008; 102: 257-264.

Torp-Pedersen C, Poole-Wilson PA, Swedberg K, Cleland JG, Di Lenarda A, Hanrath P, Komajda M, Lutiger B, Metra M, Remme WJ, Scherhag A, Skene A; COMET Investigators. Effects of metoprolol and carvedilol on cause-specific mortality and morbidity in patients with chronic heart failure--COMET. *Am Heart J* 2005; 149: 370-376.

Triposkiadis F, Karayannis G, Giamouzis G, Skoularigis J, Louridas G, Butler J. The sympathetic nervous system in heart failure physiology, pathophysiology, and clinical implications. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 1747-1762.

Trueblood NA, Inscore PR, Brenner D, Lugassy D, Apstein CS, Sawyer DB, Colucci WS. Biphasic temporal pattern in exercise capacity after myocardial infarction in the rat: relationship to left ventricular remodeling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 288: 244-249.

Valeur HS, Valen G. Innate immunity and myocardial adaptation to ischemia. *Basic Res Cardiol* 2009; 104: 22-32.

Valeur N, Clemmensen P, Grande P, Saunamäki K; DANAMI-2 Investigators. Prognostic evaluation by clinical exercise test scores in patients treated with primary percutaneous coronary intervention or fibrinolysis for acute myocardial infarction (a Danish Trial in Acute Myocardial Infarction-2 Sub-Study). *Am J Cardiol* 2007; 100: 1074-1080.

van de Ven LLM, van Veldhuisen DJ, Goulder M, Zilahi Z, Meyer WR, Willenheimer R. The effect of treatment with bisoprolol-first versus enalapril-first on cardiac structure and function in heart failure. *Int J Cardiol* 2010; 144: 59-63.

Vandervelde S, Van Luyn MJA, Rozenbaum MH, Petersen AH, Tio RA, Harmsen MC. Stem cell-related cardiac gene expression early after murine myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 2007; 73: 783-793.

Vanhoutte D, Schellings M, Pinto Y, Heymans S. Relevance of matrix metalloproteinases and their inhibitors after myocardial infarction: a temporal and spatial window. *Cardiovasc Res* 2006; 69: 604-613.

Vilahur G, Juan-Babot O, Peña E, Oñate B, Casaní L, Badimon L. Molecular and cellular mechanisms involved in cardiac remodeling after acute myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol* 2011; 50: 522-533.

Villarreal FJ, Kim NN, Ungab GD, Printz MP, Dillmann WH. Identification of functional angiotensin II receptors on rat cardiac fibroblasts. *Circulation* 1993; 88: 2849-2861.

Vivaldi MT, Kloner RA, Schoen FJ. Triphenyltetrazolium staining of irreversible ischemic injury following coronary artery occlusion in rats. *Am J Pathol* 1985; 121: 522-530.

Wang H, Huang BS, Ganten D, Leenen FHH. Prevention of sympathetic and cardiac dysfunction after myocardial infarction in transgenic rats deficient in brain angiotensinogen. *Circ Res* 2004; 94: 843-849.

Wang R, Miura T, Harada N, Kametani R, Shibuya M, Fukagawa Y, Kawamura S, Ikeda Y, Hara M, Matsuzaki M. Pleiotropic effects of the β -adrenoceptor blocker carvedilol on calcium regulation during oxidative stress-induced apoptosis in cardiomyocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 318: 45-52.

Watanabe K, Juan W, Narasimman G, Ma M, Inoue M, Saito Y, Wahed MI, Nakazawa M, Hasegawa G, Naito M, Tachikawa H, Tanabe N, Kodama M, Aizawa Y, Yamamoto T, Yamaguchi K, Takahashi T. Betaxolol improves the survival rate and changes natriuretic peptide expression in rats with heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 41: 99-103.

Watanabe K, Juan W, Narasimman G, Ma M, Inoue M, Saito Y, Wahed MI, Nakazawa M, Hasegawa G, Naito M, Tachikawa H, Tanabe N, Kodama M, Aizawa Y, Yamamoto T, Yamaguchi K, Takahashi T. Betaxolol improves the survival rate and changes natriuretic peptide expression in rats with heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 41: 99-103.

Watanabe K, Ohta Y, Inoue M, Ma M, Wahed MI, Nakazawa M, Hasegawa G, Naito M, Fuse K, Ito M, Kato K, Hanawa H, Kodama M, Aizawa Y. Bisoprolol improves survival in rats with heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001; 38: 55-58.

Watanabe K, Ohta Y, Nakazawa M, Higuchi H, Hasegawa G, Naito M, Fuse K, Ito M, Hirono S, Tanabe N, Hanawa H, Kato K, Kodama M, Aizawa Y. Low dose carvedilol inhibits progression of heart failure in rats with dilated cardiomyopathy. *Br J Pharmacol* 2000; 130: 1489-1495.

Weber KT, Wilson JR, Janicki JS, Likoff MJ. Exercise testing in the evaluation of the patient with chronic cardiac failure. *Am Rev Respir Dis* 1984; 129: 60-62.

Wei M, Xin P, Li S, Tao J, Li Y, Li J, Liu M, Li J, Zhu W, Redington AN. Repeated remote ischemic postconditioning protects against adverse left ventricular remodeling and improves survival in a rat model of myocardial infarction. *Circ Res* 2011; 108: 1220-1225.

Wei S, Chow LTC, Sanderson JE. Effect of carvedilol in comparison with metoprolol on myocardial collagen postinfarction. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 276-281.

Westcott KV, Huang BS, Leenen FHH. Brain renin-angiotensin-aldosterone system and ventricular remodeling after myocardial infarct: a review. *Can J Physiol Pharmacol* 2009; 87: 979-988.

Westing GJ, Manin'tveld AJ, Woittiez AJ, Boomsma F, Laird-Meeter K, Simoons ML, Hugenholtz PG, Schalekamp MADH. Effects of captopril in acute and chronic heart

failure. Correlations with plasma levels of noradrenaline, renin, and aldosterone. *Br Heart J* 1983; 49: 65-76.

Weston RE, Escher DJ, Grossman J, Leiter L. Mechanisms contributing to unresponsiveness to mercurial diuretics in congestive failure. *J Clin Invest* 1952; 31: 901-910.

Whittaker P, Boughner DR, Kloner RA. Role of collagen in acute myocardial infarction expansion. *Circulation* 1991; 84: 2123-2134.

Whittaker S. Treatment of heart failure. *Br Med J* 1955; 15: 937-939.

Wilke A, Funck R, Rupp H, Brilla CG. Effect of the renin-angiotensin-aldosterone system on the cardiac interstitium in heart failure. *Basic Res Cardiol* 1996; 91: 79-84.

Willenheimer R, Erdmann E, Follath F, Krum H, Ponikowski P, Silke B, van Veldhuisen DJ, van de Ven L, Verkenne P, Lechat P, on behalf of the CIBIS-III investigators. Comparison of treatment initiation with bisoprolol vs. enalapril in chronic heart failure patients: rationale and design of CIBIS-III. *Eur J Heart Fail* 2004; 6: 493-500.

Willenheimer R, van Veldhuisen DJ, Silke B, Erdmann E, Follath F, Krum H, Ponikowski P, Skene A, van de Ven L, Verkenne P, Lechat P, on behalf of the CIBIS-III Investigators. Effect on survival and hospitalization of initiating treatment for chronic heart failure with bisoprolol followed by enalapril, as compared with the opposite sequence. Results of the Randomized Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS) III. *Circulation* 2005; 112: 2426-2435.

Winslow E, Walker G, Mason R. Antiarrhythmic effects of selective beta 1- and beta 2- and nonselective beta-adrenoceptor blockade in normokalaemic and dietary-induced hypokalaemic rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 14: 673-680.

Xu J, Carretero OA, Lin CX, CavaSin MA, Shesely EG, Yang JJ, Reudelhuber TL, Yang XP. Role of cardiac overexpression of ANG II in the regulation of cardiac function and remodeling postmyocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293: 1900-1907.

Xu X, Wan W, Ji L, Lao S, Powers AS, Zhao W, Erickson JM, Zhang JQ. Exercise training combined with angiotensin II receptor blockade limits post-infarct ventricular remodeling in rats. *Cardiovasc Res* 2008; 78: 523-532.

Xu X, Wan W, Ji L, Lao S, Powers AS, Zhao W, Erikson JM, Zhang JQ. Exercise training combined with angiotensin II receptor blockade limits post-infarct ventricular remodeling in rats. *Cardiovasc Res* 2008; 78: 523-532.

Yamagishi H, Kim S, Nishikimi T, Takeuchi K, Takeda T. Contribution of cardiac renin-angiotensin system to ventricular remodelling in myocardial-infarcted rats. *J Mol Cell Cardiol* 1993; 25: 1369-1380.

Yamazaki KG, Taub PR, Barraza-Hidalgo M, Rivas MM, Zambon AC, Ceballos G, Villarreal FJ. Effects of (-)-epicatechin on myocardial infarct size and left ventricular remodeling after permanent coronary occlusion. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 2869-2876.

Yan X, Price RL, Nakayama M, Ito K, Schuldt AJT, Manning WJ, Sanbe A, Borg TK, Robbins J, Lorell BH. Ventricular-specific expression of angiotensin II type 2 receptors causes dilated cardiomyopathy and heart failure in transgenic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; 285: 2179-2187.

Yang F, Liu YH, Yang XP, Kapke A, Carretero OA. Myocardial infarction and cardiac remodeling in mice. *Exp Physiol* 2002; 87: 547-555.

Yang Y, Tang Y, Ruan Y, Wang Y, Gao R, Chen J, Chen Z. Comparison of metoprolol with low, middle and high doses of carvedilol in prevention of postinfarction left ventricular remodeling in rats. *Jpn Heart J* 2003; 44: 979-988.

Yang YJ, Tang YD, Ruan YM, Zhang P, Zhou YW, Wang PH, Gao RL, Chen JL, Chen ZJ. Comparative effects of carvedilol and losartan alone and in combination for preventing left ventricular remodeling after acute myocardial infarction in rats. *Circ J* 2003; 67: 159-162.

Yoshikawa E, Marui A, Tsukashita M, Nishina T, Wang J, Muranaka H, Ikeda T, Komeda M. Carvedilol may alleviate late cardiac remodelling following surgical ventricular restoration. *Eur J Cardiothorac Surg* 2010; 37: 362-367.

Youn TJ, Kim HS, Oh BH. Ventricular remodeling and transforming growth factor-beta 1 mRNA expression after nontransmural myocardial infarction in rats: effects of angiotensin converting enzyme inhibition and angiotensin II type 1 receptor blockade. *Basic Res Cardiol* 1999; 94: 246-253.

Young JB, Dunlap ME, Pfeffer MA, Probstfield JL, Cohen-Solal A, Dietz R, Granger CB, Hradec J, Kuch J, McKelvie RS, McMurray JJV, Michelson EL, Olofsson B, Ostergren J, Held P, Solomon SD, Yusuf S, Swedberg K, and for the Candesartan in Heart Failure Assessment of Reduction in Mortality and morbidity (CHARM) Investigators and Committees. *Circulation* 2004; 110: 2618-2626.

Zhou S, Tan AY, Paz O, Ogawa M, Chou CC, Hayashi H, Nihei M, Fishbein MC, Chen LS, Lin SF, Chen PS. Antiarrhythmic effects of beta3-adrenergic receptor stimulation in a canine model of ventricular tachycardia. *Heart Rhythm* 2008; 5: 289-297.

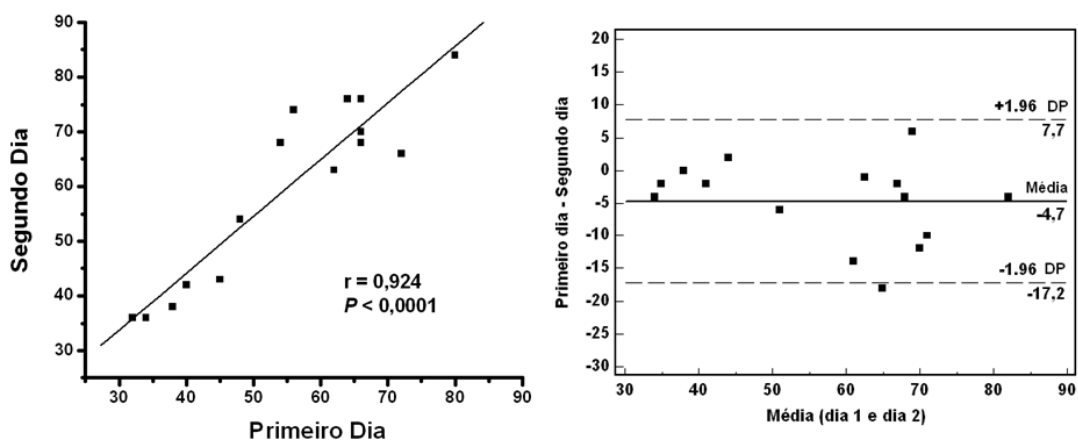
Zhu BQ, Simonis U, Cecchini G, Zhou HZ, Li L, Teerlink JR, Karliner JS. Comparison of pyrroloquinoline quinine and/or metoprolol on myocardial infarct size and mitochondrial damage in a rat model of ischemia/reperfusion injury. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2006; 11: 119-128.

Zhuang XF, Yin CQ, Wang HY, Sun NL. Distinctive effects of carvedilol in the non-infarct zone: remodeling of the ligated rat heart linked to oxidative stress. *J Int Med Res* 2009; 37: 1354-1364.

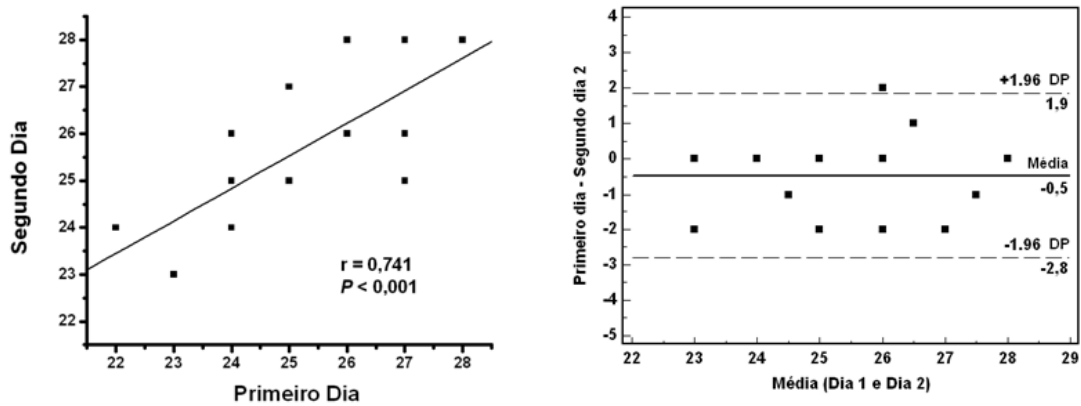
Zornoff LA, Paiva SA, Matsubara BB, Matsubara LS, Spadaro J. Combination therapy with angiotensin converting enzyme inhibition and AT1 receptor inhibitor on ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2000; 5: 203-209.

ANEXO 1

Ingestão de Água (ml)



Ingestão de Ração (g)



Volume Urinário (ml)

